

UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

**Efectos del Aislamiento Social Temprano sobre la Actividad del Circuito de  
Recompensa Cerebral y la Interacción Social en Ratas Adolescentes**

Valentyna Martin Neira

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Humanas

Departamento de Psicología

Bogotá D.C., Colombia

2023

**Efectos del Aislamiento Social Temprano sobre la Actividad del Circuito de  
Recompensa Cerebral y la Interacción Social en Ratas Adolescentes**

**Valentyna Martin Neira**

Tesis para optar por el título de Magíster en Psicología con énfasis en la línea:  
Efectos del estrés sobre el aprendizaje con modelos experimentales

**Directora:**

Marisol Lamprea Rodríguez, MSc, Ph.D.  
Universidad Nacional de Colombia

**Codirectora**

Diana Milena Cortes Patiño, MSc, Ph.D.  
Universidad Federal de Pará

**Línea de Investigación**

Neurociencia Básica y Cognoscitiva

**Grupo de Investigación**

Psicología Básica

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Humanas  
Departamento de Psicología  
Bogotá D.C., Colombia

2023

### **Agradecimientos**

A Dios por haberme dado la oportunidad de cursar esta maestría y por darme la fuerza para perseverar en mis sueños. A todas las personas que hicieron parte de este proceso en especial a mis padres y hermano, quienes me han apoyado incondicionalmente con su amor, comprensión y dedicación. A mis tías Paola y Alexandra por alegrarme con sus almuerzos, viajes y momentos especiales, y a mi tía Paty quien a pesar de la distancia física se ha mantenido cerca y siempre ha contribuido al logro de mis metas.

A la profesora Diana por motivarme a amar la ciencia y a ser mejor persona, por haberme acompañado durante todos mis años universitarios como un gran ejemplo de vida y por confiar en mí para participar en su proyecto. A la profesora Marisol por recibirme, por su paciencia, por su gran compromiso y amor hacia el laboratorio, por guiarme y siempre estar dispuesta a escuchar y dar un grato consejo.

A todos los integrantes del laboratorio de neurociencias, en especial a Jose Solano quien me ayudó a preparar mi examen de admisión. A Hans, por su paciencia. A Juan y Jose Mora, por sus contribuciones a la mejora de mi trabajo. A Maria Alejandra, por sus contribuciones al proceso de recolección. A Estrella por alegrar las tardes de trabajo y a los demás compañeros Leo, Viviana, Luisa, Rikardo y Ferney por todas las buenas charlas, risas, pasteles y discusiones académicas que compartimos.

A todos mis amigos de generación valiente quienes se han convertido en una segunda familia y han dado luz a mi vida. En especial a Laura Jiménez quien me acompañó durante tantas tardes en sesiones de pomodoro y a mi amigo Camilo por su sincera amistad y por tomarse el tiempo de revisar este manuscrito. A Will por su compañía, por su apoyo y comprensión, por escuchar mis ensayos y brindarme su ayuda no solo en la realización de este trabajo sino en la construcción de una mejor versión de mí.

A la Universidad Nacional de Colombia y al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (Minciencias #835/2019) por financiar y hacer posible este proyecto.

## **Resumen**

### **Efectos del Aislamiento Social Temprano sobre la Actividad del Circuito de Recompensa Cerebral y la Interacción Social en Ratas Adolescentes**

Se ha demostrado que el circuito de recompensa cerebral continúa en desarrollo durante la adolescencia y es sensible al estrés y las condiciones ambientales a las que son expuestos los animales. El presente estudio tuvo como objetivo determinar los efectos del aislamiento social posterior al destete en la actividad de la dopamina y la oxitocina cerebral y en el establecimiento de la preferencia de lugar condicionada por interacción social en ratas macho adolescentes. Se criaron 63 ratas. Wistar en la condición de grupo o aislamiento social, y se entrenaron en el paradigma de preferencia de lugar condicionado, utilizando el acceso a interacción social como incentivo. Para las medidas fisiológicas, se obtuvo el tejido cerebral de un grupo de animales el último día de entrenamiento y se evaluó mediante inmunofluorescencia la actividad de la dopamina cerebral con el indicador de Tirosina Hidroxilasa en el Área Tegmental ventral y la actividad de la oxitocina cerebral en el Núcleo Paraventricular del Hipotálamo. Se encontró que los animales alojados en aislamiento mostraron mayor preferencia por lugares asociados a la interacción social y aumentaron el tiempo dedicado a las conductas de juego social. Por otro lado, el aislamiento social disminuyó la cantidad de células positivas para oxitocina en el núcleo paraventricular del hipotálamo y aumentó la cantidad de tirosina hidroxilasa disponible en el área tegmental ventral. Nuestros resultados sugieren que la crianza en aislamiento social aumentó la sensibilidad de los animales a las propiedades de incentivo de la interacción social y alteró los patrones de interacción social, aumentando el juego y disminuyendo la investigación social. Sugerimos que el aumento en las conductas de juego y en sensibilidad a las propiedades de incentivo de la interacción social podría deberse al aumento en la cantidad de tirosina hidroxilasa en el VTA y la disminución en las conductas de investigación podría deberse a la reducción de la actividad de la oxitocina cerebral.

**Palabras Clave:** Aislamiento, Oxitocina, Tirosina Hidroxilasa, Interacción social

**Abstract**

**Effects of Early Social Isolation on Brain Reward Circuit Activity and Social Interaction in Adolescent Rats.**

It has been demonstrated that the brain's reward circuitry continues to develop during adolescence and is sensitive to stress and environmental conditions to which animals are exposed. The present study aimed to determine the effects of post-weaning social isolation on dopamine and brain oxytocin activity, as well as on the establishment of socially conditioned place preference in adolescent male rats. Sixty-three Wistar rats were raised either in group conditions or subjected to social isolation. They were trained in a conditioned place preference paradigm using access to social interaction as the incentive stimulus. For physiological measurements, brain tissue was obtained from a group of animals on the last day of training, and the activity of brain dopamine was assessed using Tyrosine Hydroxylase immunofluorescence in the Ventral Tegmental Area, and the activity of brain oxytocin was evaluated in the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus. It was found that animals housed in isolation exhibited a stronger preference for locations associated with social interaction and increased the time dedicated to social play behaviors. Conversely, social isolation reduced the number of oxytocin-positive cells in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and increased the amount of available tyrosine hydroxylase in the ventral tegmental area. Our findings suggest that upbringing in social isolation heightened animals' sensitivity to the rewarding properties of social interaction and altered patterns of social engagement, promoting more play, and decreasing social investigation behaviors. We propose that the increase in play behaviors and sensitivity to the rewarding properties of social interaction could be attributed to the elevated levels of tyrosine hydroxylase in the ventral tegmental area, while the decrease in investigative behaviors might be linked to reduced brain oxytocin activity.

**Keywords:** Isolation, Oxytocin, Tyrosine Hydroxylase, Social Interaction

## Tabla De Contenido

Agradecimientos .....	III
Resumen .....	IV
Abstract.....	V
Tabla De Contenido .....	VI
Lista de Figuras.....	IX
Lista de Tablas .....	IX
Lista de abreviaturas .....	X
Marco teórico.....	1
La Adolescencia.....	1
Desarrollo del Circuito de recompensa cerebral.....	5
Otras estructuras involucradas en la recompensa social.....	10
Influencia de la oxitocina en el circuito de recompensa cerebral.....	13
Efectos de la crianza en aislamiento social.....	17
Justificación .....	20
Hipótesis .....	22
Objetivos.....	23
General.....	23
Específicos .....	23
Método .....	24
Sujetos.....	24
Diseño.....	24

---

Instrumentos y equipos .....	25
Caja de Condicionamiento de Lugar .....	25
Equipos .....	26
Procedimientos .....	27
Preferencia de lugar condicionada .....	27
Evaluación de comportamiento de interacción social.....	30
Procedimientos para análisis histológico .....	31
Análisis de datos .....	33
Consideraciones éticas .....	35
Resultados .....	36
Condicionamiento de lugar .....	36
Patrones de interacción social.....	39
Evaluación de la actividad del circuito de recompensa cerebral y la oxitocina cerebral .....	41
Discusión .....	43
La crianza en aislamiento social aumentó la sensibilidad de los animales a las propiedades de incentivo de la interacción social .....	43
La crianza en aislamiento social alteró los patrones de comportamiento de la interacción social .....	47
Relación entre los comportamientos de interacción social y el establecimiento de preferencia de lugar en los animales criados en aislamiento .....	49
La crianza en aislamiento social aumentó la cantidad de TH en las células del VTA .....	52
El aislamiento social disminuyó la cantidad de células positivas para oxitocina en el PVN .....	54
Consideraciones metodológicas y perspectivas futuras.....	57
Anexos .....	86

---

Anexo 1. Operacionalización de las conductas de interacción social. ....	86
Anexo 2. ANOVA análisis línea de base preferido, no preferido y centro. ....	87
Anexo 3. Análisis tiempo brutos línea de base y prueba .....	90
ANOVA tiempo bruto en lado no preferido .....	90
ANOVA tiempo bruto en lado preferido .....	93
ANOVA tiempo bruto en centro.....	94
Anexo 4. Análisis conductas de interacción social.....	97
ANOVA tiempo de juego .....	97
ANOVA tiempo de Investigación .....	98
Anexo 5. Análisis de correlación .....	99
Correlación grupo .....	99
Correlación Aislado .....	99
Anexo 6. Análisis medidas fisiológicas .....	100
ANOVA densidad integrada Tirosina Hidroxilasa.....	100
ANOVA oxitocina conteo .....	101

### Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Diagrama simplificado de las principales conexiones del sistema mesocorticolímbico. ....	7
<b>Figura 2.</b> Redes neuronales que componen el circuito del comportamiento social.....	12
<b>Figura 3.</b> Proyecciones de oxitocina en el circuito de recompensa cerebral. ....	16
<b>Figura 4.</b> Caja de preferencia de lugar condicionada .....	26
<b>Figura 5.</b> Sesiones de condicionamiento .....	29
<b>Figura 6.</b> Distribución del tiempo en cada compartimiento durante la línea de base.....	36
<b>Figura 7.</b> Tiempo en cada compartimiento durante el pretest y test.....	38
<b>Figura 8.</b> Tiempo dedicado a interacciones sociales en primer y última sesión de condicionamiento.....	39
<b>Figura 9.</b> Correlación entre las conductas de juego y delta del CPP.....	40
<b>Figura 10.</b> Marcadores biológicos del circuito de recompensa cerebral. ....	42

### Lista de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Diseño experimental y línea de tiempo. ....	27
---	----

**Lista de abreviaturas**

<b>DP</b>	Día Posnatal
<b>CPP</b>	Preferencia condicionada de Lugar
<b>VTA</b>	Área Tegmental Ventral
<b>NAc</b>	Núcleo Accumbens
<b>CPF</b>	Corteza Prefrontal
<b>CPFm</b>	Corteza Prefrontal Medial
<b>aVTA</b>	Área Tegmental Ventral Anterior
<b>pVTA</b>	Área Tegmental Ventral Posterior
<b>tVTA/ RMTg</b>	Cola Área Tegmental Ventral
<b>TH</b>	Tirosina Hidroxilasa
<b>MSNs</b>	Medium Spiny Neurons
<b>OTR</b>	Receptores de oxitocina
<b>PVN</b>	Núcleo Paraventricular del Hipotálamo
<b>VP</b>	Pálido Ventral
<b>BLA</b>	Amígdala Basolateral
<b>Ej.</b>	Ejemplo
<b>CS</b>	Sesión de condicionamiento
<b>Gp</b>	Grupo
<b>Ais</b>	Aislado
<b>NoSoc</b>	No social
<b>Soc</b>	Social
<b>CS+</b>	Estimulo condicionado
<b>US</b>	Estimulo incondicionado

## Marco teórico

### La Adolescencia

La adolescencia es la etapa de transición entre la infancia y la adultez, considerado un periodo de gran vulnerabilidad ya que las diferentes influencias contextuales y sociales impactan la cotidianidad del individuo y determinan en gran medida la dirección de su desarrollo. Suele ser una etapa estresante, ya que supone un gran desafío para los adolescentes quienes deben aprender a ser independientes, adquiriendo y practicando las habilidades necesarias para sobrevivir lejos de sus progenitores (Hamburg & Takanishi, 1988; Casey et al., 2008). Esta etapa del desarrollo es particularmente importante en los mamíferos, considerando que al nacer cuentan con un repertorio comportamental limitado que se complementa a partir de la experiencia (Spear, 2000).

Establecer los límites exactos de la adolescencia es difícil, ya que no hay un acontecimiento específico que marque su inicio o fin, en especial en los animales experimentales. Según Spear (2000) la adolescencia en las ratas se da desde el día posnatal (DP) 28 al DP 42, aunque se ha visto que algunas transiciones según el sexo del animal, pueden iniciar cerca del DP 20 y finalizar cerca del DP 55 (Odell, 1990; Ojeda & Urbanski, 1994). Teniendo en cuenta esto, algunos investigadores dividen la adolescencia en tres etapas: la adolescencia temprana (DP 21 al 33), la adolescencia media (DP 34 al 46) y la adolescencia tardía (DP 47 al 60) cada una caracterizada por procesos de desarrollo específicos (McCutcheon & Marinelli, 2009).

Durante la adolescencia se evidencia la maduración de habilidades físicas y cognitivas, tales como los tiempos de reacción, la capacidad de razonamiento, la función inmunitaria, la resistencia a lesiones, entre otras (Dahl, 2004); sin embargo, también se evidencia un aumento en los comportamientos de riesgo y en la búsqueda de sensaciones intensas, que podrían estar influyendo en el aumento del consumo de drogas, así como en el aumento en la prevalencia de trastornos del estado de ánimo, alimentarios y problemas de la

salud relacionados con comportamientos sexuales (Young et al., 2002; Kessler et al., 2005; Vermeersch et al., 2013).

Una de las características más importantes de la adolescencia es el notable aumento en la sensibilidad a las propiedades de incentivo de las interacciones sociales (McCutcheon & Marinelli, 2009). Investigaciones con adolescentes humanos han mostrado que durante esta etapa se presentan cambios en la calidad de las interacciones sociales con familiares, y se da un aumento en la cantidad de tiempo dedicado a interactuar con compañeros (Larson et al., 1996; Ladd et al., 2014). De igual forma, estudios con modelos animales han mostrado que durante la adolescencia se evidencia un aumento de los comportamientos de juego y a medida que avanza la adolescencia las interacciones con el género opuesto y los encuentros sexuales, aumentan su valor (Trezza et al., 2011). Se cree que esta reestructuración de las interacciones sociales permite el desarrollo de estrategias comportamentales que facilitan la supervivencia en la edad adulta (Blakemore, 2008).

Dos de los patrones de comportamiento social que más se han estudiado en modelos animales durante la adolescencia son la investigación y el juego social. Las conductas de investigación social abarcan todos los comportamientos realizados para identificar a un congénere (Fuxjager et al., 2010). Incluyen olfatear, lamer o acercar las vibrisas a alguna parte del cuerpo del compañero y la detección anogenital. Estos comportamientos suelen ir acompañados de interacciones activas como arrastrarse por debajo, caminar por encima, perseguir en pequeños círculos o montar y pueden ser unilaterales o bilaterales. Se ha demostrado que los animales aumentan las conductas de investigación y reducen las conductas de juego cuando un animal se comporta de forma anormal, por ejemplo, cuando es tratado con escopolamina (Calcagnetti & Schechter, 1992).

Por su parte, el juego social es muy común en los animales adolescentes. Este patrón de comportamiento destaca por su naturaleza vigorosa y enérgica, incluso puede incluir elementos de comportamiento agresivo y sexual, pero el juego social siempre va precedido de señales físicas, faciales u orales que indican intención lúdica (Bell et al., 2010). Las conductas de juego a menudo comienzan con un animal abalanzándose sobre el cuello del otro, y éste responde rodando sobre su superficie dorsal exponiendo su vientre, buscando

alcanzar el cuello del oponente para hacerle girar y quedarse encima de él o también puede alejarse rápidamente e iniciar un episodio de persecución (Pellis & McKenna, 1995; Pellis & Pellis, 2017). Las conductas de juego preparan al animal para las conductas de dominancia entre machos (Blumstein et al., 2013; Sharpe, 2005), y están involucradas en el desarrollo del comportamiento sexual, así como en el desarrollo de funciones ejecutivas, como la atención, la memoria a corto plazo, el control de impulsos y la regulación emocional (Pellis, Pellis y Himmler, 2014; Vanderschuren & Trezza, 2014; Vanderschuren et al. 2016). Se ha demostrado que los comportamientos de juego alcanzan su punto máximo durante los DP 30-35, cuando empiezan a disminuir. La presencia de estos dos comportamientos durante el desarrollo es de vital importancia para las ratas, ya que les permite practicar e implementar las conductas que en el futuro le servirán para adaptarse y sobrevivir (Pellis & McKenna, 1995) y está estrechamente asociada al proceso de memoria y reconocimiento social (Maaswinkel et al, 1997).

Diversas investigaciones han mostrado que los animales adolescentes muestran mayores conductas de juego respecto a los animales adultos (p. ej. Meaney & Stewart, 1981; Panksepp et al., 1984; Vanderschuren et al., 1997; Varlinskaya & Spear, 2002). Pellis & McKenna, (1992) resaltan que ese aumento del juego durante la adolescencia se relaciona con un aumento en sus propiedades de incentivo. De hecho, los estudios con modelos animales han mostrado que independiente del paradigma de estudio, los estímulos sociales parecen tener una relevancia en el control del comportamiento, lo que indica sus propiedades como incentivo, es así que trabajos clásicos de la literatura han mostrado que la interacción social funciona como una recompensa natural en las ratas tanto en paradigmas de condicionamiento operante (Angermeier et al, 1959; Werner & Anderson, 1976; Evans et al., 1994) como en paradigmas de condicionamiento clásico (ej. Calcagnetti y Schechter, 1992; Trezza et al., 2009).

Uno de los paradigmas más usados para evaluar las propiedades de incentivo de un estímulo o de una sustancia, es la prueba de preferencia condicionada de lugar (CPP por sus siglas en inglés). En esta prueba, un estímulo condicionado (CS+) se empareja con un estímulo incondicionado (US) que puede ser una droga o un compañero social. Para ello, se

utiliza un instrumento que consta de dos compartimientos que difieren por sus señales visuales y dactilares, y según el tipo de procedimiento que se use (sesgado o no sesgado), se realizan varias sesiones de emparejamiento donde se presenta un estímulo incondicionado en un lado del instrumento y no se presenta ningún estímulo en el otro compartimiento. Luego de varias sesiones de condicionamiento, se expone el animal a ambos comportamientos de forma simultánea y se evalúa cual lado prefiere. Se infiere que las características ambientales de un lugar (CS+), luego de varios emparejamientos con el estímulo o sustancia (US), actúan como señales de recompensa por lo que el lugar adquiere saliencia de incentivo, generando motivación para aproximarse y mantenerse en contacto con él, aun en ausencia del US. Cuando se utiliza un procedimiento sesgado, se realiza una evaluación previa de la preferencia del animal por uno de los comportamientos y el estímulo incondicionado es emparejado con el lado inicialmente no preferido, cuando se usa un protocolo no sesgado, se empareja el estímulo incondicionado con un lado de forma aleatoria. (Calcagnetti & Schechter, 1992; Bariselli et al., 2018).

El CPP ha sido usado para demostrar el valor de incentivo de sustancias como la nicotina (Belluzi et al, 2004, Cortes-Patiño et al., 2023<sup>a</sup>) y la cocaína (Fritz et al., 2011; El Rawas et al., 2012). Igualmente, ha demostrado ser efectivo para evaluar las propiedades de incentivo de la interacción social (Crowder y Hutto, 1992; Calcagnetti y Schechter, 1992; Van den Berg et al., 1999<sup>a</sup>; Panksepp y Lahvis, 2007; Thiel et al., 2008; Trezza et al., 2009; Kummer et al., 2011; Dölen et al., 2013; Lahvis et al., 2015; Hung et al., 2017; Bariselli et al., 2018).

Estudios en ratas han demostrado que la interacción social tiene un mayor valor de incentivo durante la adolescencia en comparación con la edad adulta. Douglas et al, (2004) compararon la sensibilidad a las propiedades de incentivo de la interacción social mediante una prueba de CPP y evaluaron los comportamientos de juego, evitación e investigación social entre ratas adolescentes (DP 230) y ratas adultas (DP 55) criadas en diferentes condiciones de alojamiento. Para ello, utilizaron un procedimiento de preferencia de lugar condicionada y registraron los comportamientos sociales durante las sesiones de condicionamiento. Para el entrenamiento utilizaron dos instrumentos de condicionamiento

de preferencia de lugar ajustados para cada edad, que tenían dos compartimientos que diferían entre sí por sus señales visuales y sensoriales. El entrenamiento duro 6 días, y durante las sesiones experimentales, los animales fueron expuestos a ambos lados del aparato CPP, así como a un tercer entorno diferente al aparato de condicionamiento (una caja de vivienda transparente con virutas de pino), durante 15 minutos. Hubo un intervalo de una hora entre la exposición a cada compartimiento. Para las sesiones de emparejamiento, se colocaba en uno de los compartimientos del aparato CPP a cada sujeto experimental con un compañero del mismo sexo y de la misma edad de una camada diferente (lado emparejado). El animal experimental se colocaba solo en el segundo compartimiento (lado no emparejado) y también en el tercer contexto de exposición. Los autores encontraron que los animales adolescentes en general presentaban mayores conductas de juego que los adultos, siendo más alto en los machos respecto a las hembras. De igual forma se encontró que los animales adolescentes mostraban un aumento en la preferencia por el lugar en el que se encontraba el estímulo social respecto a los animales adultos, evidenciando un aumento en las propiedades de incentivo de la interacción social en esta edad.

El aumento en las propiedades de incentivo de la interacción social durante la adolescencia (Van Kerkhof, 2013) está relacionado con los cambios neuronales por los que atraviesan los animales durante esta etapa que incluyen cambios importantes en estructuras mesolímbicas y corticales implicadas en el circuito dopaminérgico de la recompensa cerebral. Estos cambios consisten en un refinamiento en la corteza prefrontal, la amígdala y el núcleo accumbens, evidenciado en aumentos en su grosor, incrementos en la mielinización y una mayor conectividad funcional (Casey et al., 2008; Crone, 2009).

### **Desarrollo del Circuito de recompensa cerebral**

El circuito de recompensa cerebral es una red de estructuras interconectadas, que funcionan en conjunto para evaluar la saliencia de un estímulo externo y responder de forma adecuada, garantizando la obtención de un beneficio que conlleve a la supervivencia del animal, (p. ej., reproducirse o alimentarse). El funcionamiento de este circuito permite dirigir el comportamiento hacia la obtención de un estímulo gratificante, e influye en la memoria y

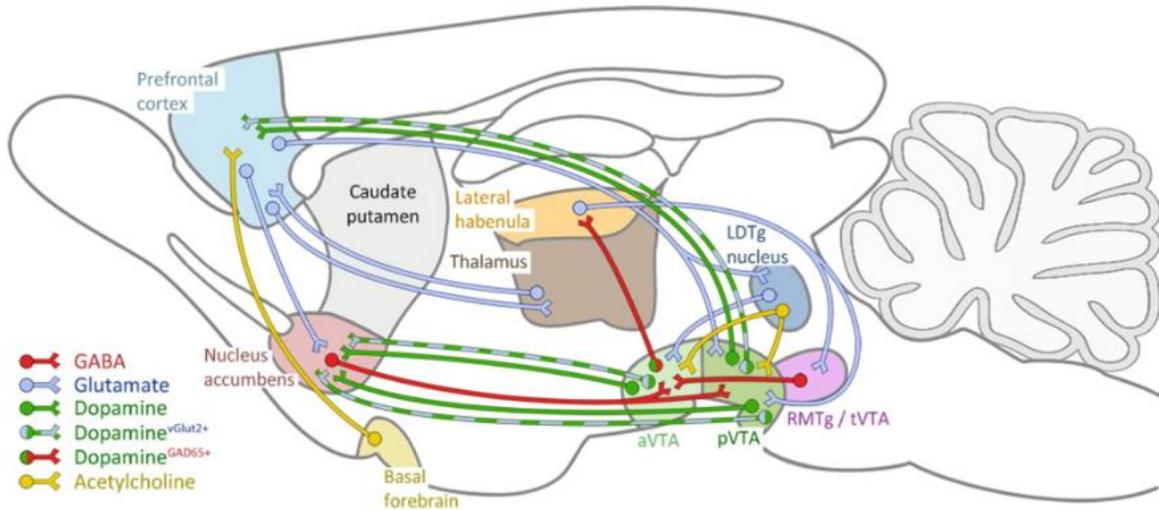
el aprendizaje sobre estímulos, mediante el establecimiento y repetición de los patrones comportamentales que conllevan a una recompensa (Wise, 2002).

Diversos estudios han centrado su interés en indagar cuáles son las principales estructuras que conforman el circuito de recompensa cerebral; dentro de las más estudiadas, se encuentra el área tegmental ventral (por sus siglas en inglés VTA), el núcleo accumbens (por sus siglas en inglés NAc) y la corteza prefrontal (por sus siglas CPF), que conforman la principal vía dopaminérgica mesocorticolímbica (Kelley & Berridge, 2002). Estas estructuras son influenciadas por otras como la amígdala basolateral, el hipocampo y la habénula lateral, entre otras (Nair-Roberts et al, 2008). En la Figura 1 se presenta un esquema resumido de las principales estructuras y conexiones del circuito de recompensa cerebral (Pistillo et al., 2015).

El VTA se encuentra localizado en el mesencéfalo y está dividido en tres subregiones, el área tegmental ventral anterior (aVTA), el área tegmental ventral posterior (pVTA) y la cola del área tegmental ventral (tVTA) también llamado núcleo tegmental rostromedial. Las regiones anterior y posterior del VTA se componen en un 60% por neuronas dopaminérgicas de proyección, que se caracterizan por la presencia de la enzima tirosina hidroxilasa (TH) (Bannon et al., 2019). Estas neuronas envían proyecciones dopaminérgicas al tubérculo olfatorio, al NAc, a la corteza prefrontal medial y a la amígdala basolateral (Gowrishankar & Clark, 2020).

**Figura 1.**

*Diagrama simplificado de las principales conexiones del sistema mesocorticolímbico.*



Nota: Gráfico de las principales estructuras y proyecciones del sistema mesocorticolímbico. (aVTA) área tegmental ventral anterior. (pVTA) área tegmental ventral posterior. (tVTA) Cola del área tegmental ventral. (RMTg) núcleo tegmental rostro medial. (LDTg) núcleo tegmental laterodorsal. Tomado de “Nicotinic, glutamatergic and dopaminergic synaptic transmission and plasticity in the mesocorticolimbic system: Focus on nicotine effects,”(p. 3) por F. Pistillo, et al, 2014, Progress in Neurobiology, 124. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301008214001130>)

Además de las neuronas dopaminérgicas, el VTA también cuenta con interneuronas que expresan el ácido gamma-aminobutírico (GABA) que se ubican principalmente en el área tegmental posterior, desde donde envía proyecciones a la corteza prefrontal, al núcleo accumbens y a la habécula lateral (Pistillo et al., 2016; Kelley & Berridge, 2022). Tritsch y et al. (2012) demostraron que algunas de estas neuronas dopaminérgicas también contienen GABA que es liberado en la sinapsis junto con la dopamina. De igual forma, se ha reportado que otra subpoblación de neuronas dopaminérgicas del VTA, contienen el transportador vesicular de glutamato “VGlut2”, cuya estimulación conduce corrientes postsinápticas excitatorias en las neuronas del núcleo accumbens y de la corteza prefrontal (Chuhma et al., 2004; Kawano et al., 2006). En cuanto a las terminales nerviosas que recibe el VTA, se han identificado proyecciones glutamatérgicas desde la corteza prefrontal medial (CPFm), proyecciones glutamatérgicas y colinérgicas desde el núcleo tegmental laterodorsal (Sesack

& Pickel, 1992; Geisler & Zahm, 2005) y proyecciones GABAérgicas desde el NAc, la habénula lateral y desde la cola del área tegmental ventral.

Cuando las neuronas dopaminérgicas del VTA son estimuladas, se inicia la biosíntesis de catecolaminas que permite la liberación de dopamina en las terminales nerviosas de estas neuronas. Se ha propuesto que la liberación de dopamina en el NAc es lo que determina en gran medida las propiedades de incentivo de un estímulo (Wise, 2002). La TH juega un papel muy importante en la síntesis de catecolaminas ya que limita la velocidad de conversión de la dopamina. La síntesis de catecolaminas inicia con la conversión de la fenilalanina en tirosina por la acción de la enzima fenilalanina hidroxilasa, luego la tirosina se transforma en L-dopa, por la acción de la enzima TH, para finalmente resultar en dopamina por la acción de la enzima dopa descarboxilasa (Dunkley & Dickson, 2019).

Varios autores han propuesto que el NAc funciona como un integrador clave en el procesamiento de la recompensa, ya que cuando se trata de un estímulo saliente, las terminales glutamatérgicas del núcleo tegmental laterodorsal, estimulan mediante la liberación de acetilcolina y glutamato a las neuronas dopaminérgicas localizadas en el aVTA, provocando aumentos en la liberación de dopamina que estimula los receptores D1 y D2 ubicados en el NAc, siendo esta una señal indispensable para el reforzamiento (Gerfen et al., 1990; Wise, 2002). El NAc se ubica en la parte ventral del cuerpo estriado y está compuesto en un 95% por neuronas GABAérgicas de tamaño medio denominadas “*medium spiny neurons*” (MSNs), y en un 5% por neuronas colinérgicas e interneuronas GABAérgicas (Tepper & Bolam, 2004). Esta estructura tiene proyecciones recíprocas con el VTA y recibe proyecciones de la corteza prefrontal, entre otras (Lammel et al., 2011; Lammel et al., 2012; Pistillo et al., 2016).

Un estudio reciente de Gunaydin et al., (2014) demostró que un corto periodo de interacción social con un conoespecífico extraño aumentó la actividad de las neuronas dopaminérgicas del VTA que proyectan al NAc en ratones hembras adultos. Ellos utilizaron una técnica de fotometría de fibra que permite el registro óptico de la actividad en proyecciones neuronales. Es importante mencionar que para la detección de las neuronas dopaminérgicas del VTA se utilizó como diana la presencia de la enzima TH. Además en

esta misma investigación se encontró que un corto periodo de interacción social produjo un robusto aumento del factor de transcripción cFos en el NAc, mostrando un aumento sustancial en la actividad de esta estructura frente a un estímulo social.

Se cree que una de las razones del aumento en la sensibilidad a las propiedades de incentivo de la interacción social se debe en parte a los cambios en la actividad dopaminérgica en el NAc durante la adolescencia. Badanich et al., (2006) realizaron un estudio donde evaluaron por medio de microdiálisis la dopamina extracelular en el NAc en ratas macho Sprague-Dawley en tres momentos del desarrollo (DP 35, 45 y 60), y encontraron un aumento sustancial de la dopamina extracelular entre la adolescencia temprana y en la adolescencia tardía, así como una disminución de la dopamina hacia el final de la adolescencia y el inicio de la adultez. Frantz et al., (2006) realizaron una investigación similar pero no encontraron diferencias en los niveles de dopamina extracelular del NAc en ratas Wistar macho adolescentes (DP 37) y adultas (DP 75). Estas investigaciones sugieren que es durante la adolescencia media (DP 45) donde se evidencia la mayor actividad dopaminérgica en el NAc. Esta evidencia está de acuerdo con lo propuesto por Spear (2000) quien describió la relación inversa de la actividad dopaminérgica entre el NAc y la CPF durante el desarrollo de la adolescencia, mostrando que en la adolescencia temprana se da mayor actividad dopaminérgica en la CPF y menor actividad en el NAc respecto a la adolescencia tardía, donde se invierte dicha relación. Además, se han reportado cambios en la densidad de los receptores dopaminérgicos del NAc relacionados con la edad, evidenciándose un aumento de casi el 75% en la densidad de los receptores D1 y D2 hacia el día posnatal 40, desde donde disminuyen hasta el DP 80 donde alcanza la densidad típica de la edad adulta (Teicher et al., 1995; Baldessarini & Tarazi, 2000).

Otra de las estructuras que están anatómica y funcionalmente relacionadas con el sistema de recompensa cerebral es la corteza prefrontal. Esta estructura funciona como un regulador crucial en los comportamientos orientados a la recompensa (Albertin et al., 2000), ya que modula el tono dopaminérgico y glutamatérgico en respuesta a los estímulos salientes. La CPF cuenta con proyecciones glutamatérgicas con el VTA, desde donde también recibe

proyecciones dopaminérgicas, y se conecta con otras estructuras como la amígdala y el pálido ventral (Zahm, 2000; Sesack et al., 2003; Ikemoto & Wise, 2004).

Al igual que el núcleo accumbens, la CPF presenta cambios importantes durante la adolescencia, específicamente en la corteza prefrontal medial que se han asociado a alteraciones en las estrategias de aprendizaje y en el procesamiento de decisiones respecto a las recompensas (Walker, 2017). Estos cambios son de tres tipos: en primer lugar, se observa un proceso de poda neuronal entre el DP 35 al DP 90, donde se evidencia una disminución significativa en la cantidad de neuronas (Willing & Juraska, 2015; Koss et al., 2015), en la complejidad dendrítica y en el número de sinapsis en esta región, con relación al inicio de la pubertad (Koss et al., 2014; Drzewiecki et al. 2016). En segundo lugar, se presenta un fortalecimiento de las proyecciones dopaminérgicas (Lambe et al., 2000; Naneix et al., 2012) y glutamatérgicas (Tarazi & Baldessarini, 2000; Arakawa, 2018; Thorpe et al., 2020) que se dirigen hacia esta área, evidenciándose un aumento en las fibras nerviosas sobre todo durante la adolescencia tardía. Finalmente, se evidencia una disminución selectiva de las células que proyectan al NAc y que expresan el receptor D1, desde el DP 44 hasta la adultez (Brenhouse et al., 2008).

Se ha observado la actividad de otras áreas del cerebro que trabajan en conjunto para el procesamiento de las recompensas, por ejemplo, se ha demostrado el rol fundamental del pálido ventral (por sus siglas en inglés VP) en el aprendizaje guiado por refuerzos (Ikemoto, 2007; Yin et al., 2008). Sin embargo, cuando se trata del procesamiento de la recompensa social, algunas estructuras como el hipocampo, la amígdala basolateral (BLA) y la CPFm cobran especial interés.

### **Otras estructuras involucradas en la recompensa social**

La actividad del hipocampo se ha relacionado históricamente con procesos de memoria episódica relacionados al entorno y a la experiencia de recompensa (Savage et al., 2004), sin embargo su actividad también se relaciona con la emisión de la respuesta comportamental correcta ante las interacciones sociales (Maaswinkel et al., 1997; Pagani et al., 2015) y se ha observado que la densidad de sus espinas y de sus ramificaciones dendríticas

aumentan desde la adolescencia hasta la edad adulta (Pokorny & Yamamoto, 1998; Gourley et al., 2012; Koss et al., 2014).

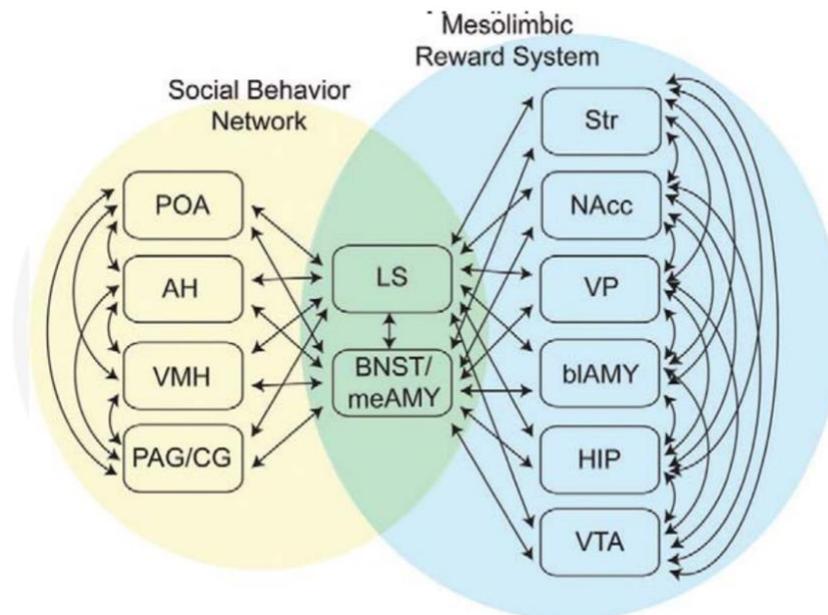
Por su lado, la BLA (Amígdala Basolateral por sus siglas en inglés) se encuentra ubicada en la parte ventral medial del cerebro, y su actividad está asociada principalmente con la integración de estímulos emociones y la regulación de conductas motivadas, así como con la evaluación y asignación del valor reforzador a los estímulos. El BLA, se encuentra estrechamente conectada con las estructuras centrales del circuito de recompensa mesocorticolímbico, ya que cuenta con proyecciones glutamatérgicas recíprocas con la CPFm, se proyecta al NAc y recibe proyecciones dopaminérgicas del VTA (Wassum & Izquierdo, 2015; Walker, 2017). Se ha observado que la activación glutamatérgica de la BLA disminuye la interacción social (Sanders & Shekhar, 1995), y la inhibición de estas proyecciones o proyecciones GABAérgicas aumenta las interacciones sociales (Sajdyk & Shekhar, 1995; Paine et al., 2017). Un estudio reciente de Felix-Ortiz et al. (2016) demostró que esta regulación podría estar siendo mediada por la CPFm. Los autores demostraron que la activación de esta vía glutamatérgica reduce la interacción social, mientras que su inhibición facilita la interacción social en una prueba de intruso-residente. Se estima que el aumento en las interacciones sociales durante la adolescencia también se relaciona con los cambios en las proyecciones de la amígdala, en especial por sus proyecciones recíprocas con la CPFm que muestran un fortalecimiento sináptico significativo hacia el DP 30, alcanzando un pico en el DP 31 y reduciéndose hacia el DP 45 (Pattwell et al., 2016; Arruda-Carvalho et al., 2017).

Además de las estructuras del circuito de recompensa cerebral, también se ha evidenciado la influencia de la red del comportamiento social en el procesamiento de la recompensa social. La red de comportamiento social, o “*social brain network*” media múltiples formas del comportamiento social, como la reproducción, la agresión, el juego y el cuidado parental (Numan, 2007; Paredes, 2009). La red del comportamiento social involucra más de diez estructuras interconectadas entre sí, donde se evidencia la actividad de neurotransmisores como el GABA, glutamato, serotonina, vasopresina, dopamina, corticosterona y OT. Este complejo circuito, en realidad se compone de dos redes neuronales:

la red de comportamiento social y el circuito de recompensa cerebral, como se ilustra en la Figura 2. Se cree que la red del comportamiento social, se asocia sobre todo al reconocimiento de las situaciones sociales, mientras que el circuito de recompensa cerebral se asocia con la saliencia de incentivo de dicho estímulo. Ambas redes neuronales son fundamentales para que el animal pueda responder adecuadamente a determinado estímulo social y para que estas respuestas se establezcan y repitan en el tiempo (O'Connell & Hofman, 2011).

### Figura 2.

Redes neuronales que componen el circuito del comportamiento social



Nota: Circulo de la derecha indica circuito de recompensa cerebral. Circuito de la izquierda indica red de comportamiento social. Zona central indican nodos compartidos en ambas redes. (POA) área preóptica. (AH) hipotálamo anterior. (VMH) hipotálamo ventromedial. (PAG) giro periacuaductal. (CG) giro central. (LS) septum lateral. (BNST). núcleo cama de la estría terminal. (meAMY) amígdala media. (Str) cuerpo estriado. (NAcc) núcleo accumbens. (VP) pálido ventral. (bAMY) amígdala basolateral. (HIP) hipocampo. (VTA) área tegmental ventral. Tomada de O'Connell y Hofmann (2011). Tomado de "The Vertebrate Mesolimbic Reward System and Social Behavior Network: A Comparative Synthesis," (p. 3600) por L. O'Connell & H. Hofmann, 2011, *The Journal of Comparative Neurology*, 519. (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cne.22735>)

Si bien, este circuito abarca una gran cantidad de estructuras e implica la actividad de varios neurotransmisores que trabajan en conjunto, recientes investigaciones han mostrado que el neuropéptido oxitocina (OT) juega un papel fundamental en el procesamiento de la recompensa social (Young & Wang, 2004; Shamay-Tsoory et al., 2016; Xiao et al., 2017; Hung et al., 2017).

### **Influencia de la oxitocina en el circuito de recompensa cerebral**

La oxitocina es una hormona principalmente sintetizada y liberada por el núcleo paraventricular de hipotálamo (PVN). Este núcleo, se compone principalmente por dos subregiones celulares: la región magnocelular y la región parvocelular. La región magnocelular cuenta con células de gran tamaño localizadas en la parte posterior y ventral del PVN que sintetizan y liberan los péptidos oxitocina y vasopresina. La región parvocelular, está compuesta por células más pequeñas involucradas en la liberación de la hormona liberadora de corticotropina y estimulantes de la tiroides, que se localizan en la parte anterior y dorsal del PVN (Swanson et al., 1980).

Una gran parte de la oxitocina que es producida en el PVN es distribuida a través del sistema venoso portal hipotálamo–hipofisario: las neuronas del PVN tienen terminales en la eminencia media, donde la oxitocina es liberada en el plexo capilar primario y atraviesa los vasos porta largos en el tallo hipofisario para llegar al plexo secundario de la glándula pituitaria anterior (López-Ramírez, 2014), y una parte funciona como neuromodulador en el cerebro. La oxitocina actúa tanto en el sistema nervioso periférico como en el central y media funciones conductuales y fisiológicas como la reproducción, el cuidado parental, la tolerancia al dolor, los compartimentos prosociales y la respuesta al estrés (Lukas et al, 2011; Smith et al., 2017; Krimberg et al., 2021).

Es así que el PVN mantiene proyecciones de oxitocina con estructuras de la red del comportamiento social y con el circuito de recompensa cerebral como la BLA, la CPF, NAc y el VTA. Además, se ha observado la presencia de receptores para oxitocina (OTR) en áreas como el núcleo del lecho de la estría terminal, el área preóptica medial, el núcleo ventromedial del hipotálamo, el hipocampo, el pálido ventral, la sustancia gris periacuaductal, el cuerpo estriado, el tabique lateral y el bulbo olfatorio, entre muchas otras

(Grinevich et al., 2015; Jurek & Neumann, 2018). Se ha observado que la administración central de un antagonista para OTR disminuye las interacciones sociales y aumenta la liberación de corticosterona, una hormona relacionada al estrés, en ratas adolescentes (Lim & Young, 2006; Hodges et al., 2019) y un estudio de Ferguson et al. (2002) mostró que la oxitocina también se relaciona con la adquisición del recuerdo social, siendo así que en ratones mutantes que no expresan el gen para la oxitocina y que son completamente amnésicos socialmente, la administración central de este péptido antes pero no después del encuentro inicial con un conoespecífico restauró el reconocimiento social. Por otro lado, Hung et al., (2017) demostraron que la actividad de las neuronas oxitocinérgicas del PVN en ratones macho adultos aumenta sustancialmente tras el contacto social con un conoespecífico más joven.

Estudios con topillos de la pradera, conocidos comúnmente por ser monoparentales han demostrado que los receptores de oxitocina en el NAc son fundamentales para la formación de parejas (Young & Wang, 2004) y, más específicamente, el trabajo de Liu & Wang (2003) mostró que se necesita la coactivación de los receptores dopaminérgicos D2 y de los OTR en el núcleo accumbens para la formación y mantenimiento de dicho vínculo.

Teniendo en cuenta la estrecha relación de la oxitocina con los comportamientos sociales, recientes estudios han demostrado que las múltiples proyecciones de oxitocina del PVN a estructuras del circuito mesocorticolímbico modulan el equilibrio del tono de dopamina, mediando la respuesta y el valor de los estímulos sociales (Zanos et al., 2015; Xiao et al., 2017). Shamy-Tsoosy & Abu-Akel (2016) proponen que el papel fundamental de la oxitocina en el circuito dopaminérgico está relacionado a la modulación de las respuestas de orientación atencional ante las señales sociales contextuales, lo que determina en gran medida la relevancia y los comportamientos de aproximación hacia los estímulos sociales. Tal regulación estaría mediada principalmente por la BLA y el NAc, ya que la actividad de estas estructuras se encuentra altamente relacionada con la evaluación de los estímulos salientes y mantienen proyecciones inhibitorias con el VTA, regulando la liberación de dopamina, que a su vez también está siendo regulada por la liberación de oxitocina tanto en el VTA, como en la BLA y el NAc desde el PVN.

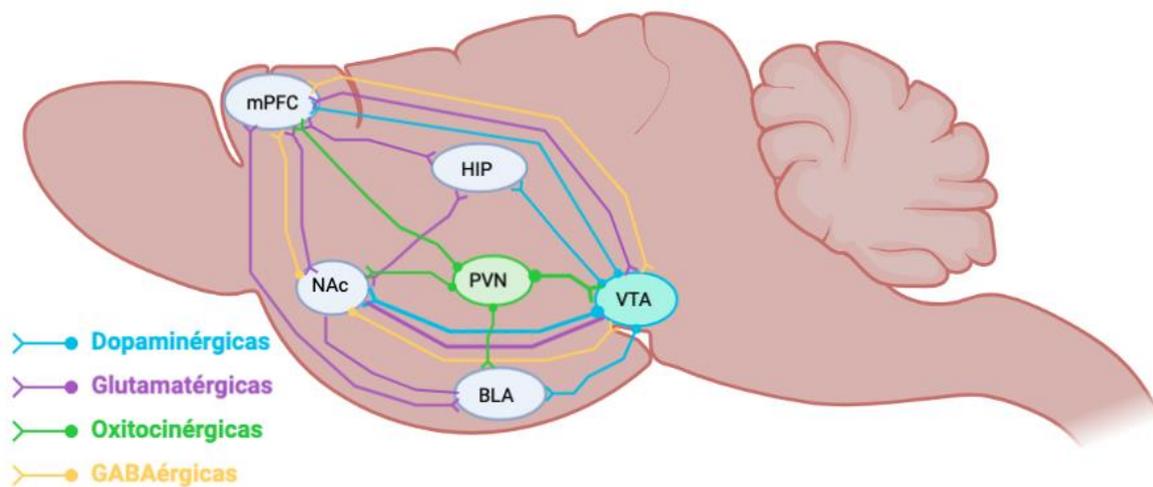
Estudios recientes han mostrado que las proyecciones de oxitocina desde el PVN a estructuras como el VTA y el NAc juegan un papel fundamental en el CPP por un estímulo social. Hung et al. (2017) rastreó por medio de un virus (AAVDJ-DIO-eGFP) las proyecciones de oxitocina del PVN al VTA en ratones macho y encontró que dichos axones terminaban por lo general en proximidad a neuronas dopaminérgicas que expresaban OTR. En este estudio, los investigadores inhibieron dichas proyecciones y luego de dos semanas sometieron a los animales a una prueba de condicionamiento de lugar y encontraron que los ratones a los que inhibieron dicha proyección, mostraron menor CPP social en comparación con los animales del grupo control. Interesantemente ambos grupos mostraron CPP luego de la administración de cocaína, sugiriendo un papel modulador específico de la oxitocina en la modulación del papel reforzante de las interacciones sociales. En este mismo estudio los autores realizaron otro experimento donde bloquearon los receptores de oxitocina en el VTA y encontraron que tales animales no mostraban CPP social. Estos resultados van en el mismo sentido de trabajos previos en los cuales también se reportó que la liberación de oxitocina desde el PVN al VTA incrementa la actividad de células dopaminérgicas en el VTA que proyectan al NAc, y aumenta los comportamientos prosociales (Shamay-Tsoosy & Abu-Akel, 2016; Buffington et al., 2016).

De igual forma, se ha encontrado que las proyecciones de oxitocina desde el PVN al NAc también modulan la respuesta a los comportamientos sociales. Un trabajo de Dölen et al., (2013) reportó que la administración de un antagonista de oxitocina en el NAc impidió el CPP por un estímulo social, pero no por cocaína, mostrando que la oxitocina desde el PVN también actúa como señal de refuerzo social en el NAc provocando una depresión a largo plazo de la transmisión sináptica excitatoria en las neuronas MSNs, y además este proceso también es mediado por la actividad de las proyecciones serotoninérgicas proveniente del núcleo dorsal de rafe. Estos estudios son evidencia del complejo funcionamiento neuronal necesario para responder a los estímulos sociales, en la Figura 3 se presenta un esquema resumiendo de las principales estructuras y neurotransmisores implicados en el procesamiento de la recompensa social.

Es importante mencionar que la actividad del péptido oxitocina así como la densidad de sus receptores, muestran importantes transformaciones durante la adolescencia. Por ejemplo, Tribollet et al. (1989), muestra que el paso de la expresión de los OTR del “patrón infantil” al “patrón adulto” se da principalmente en dos etapas: entre los DP 16 al 22, correspondiente al periodo de destete, donde se reducen los OTR en áreas como el córtex cingulado y el hipocampo dorsal y aumentan en el hipocampo ventral y luego del DP 35, coincidiendo con el inicio de la pubertad, donde se evidencia un aumento en los OTR en el núcleo hipotalámico ventromedial y en el tubérculo olfatorio.

### Figura 3.

*Proyecciones de oxitocina en el circuito de recompensa cerebral.*



Nota: Gráfico simplificado de las principales estructuras y neurotransmisores del sistema mesocorticolímbico integrado con las principales proyecciones de oxitocina del PVN. (PVN) núcleo paraventricular del hipotálamo. (mPFC) corteza prefrontal medial. (NAc) núcleo accumbens. (BLA) amígdala basolateral. (HIP) hipocampo. (VTA) área tegmental ventral.

Igualmente, se ha observado que el cambio cualitativo de las interacciones sociales y sus propiedades gratificantes se relacionan con los cambios en la función neuromoduladora de la OT. Por ejemplo, se ha encontrado que el juego social aumenta durante la infancia y la adolescencia (Bredewold et al., 2014), y justo entre los DP 16-22 (infancia) y después del inicio de la pubertad hacia el DP 35 (adolescencia media) se evidencia un aumento en la

expresión de los OTR sobre todo en áreas relacionadas a la recompensa y a la memoria social y espacial (Tribollet et al., 1992), mientras que en la adultez la formación de pareja (Keebaugh et al, 2015) y el cuidado aloparental cobran importancia (Ross et al., 2009) y es en esta etapa donde se evidencia un aumento en los OTR sobre todo en áreas corticales relacionadas con la toma de decisiones sociales (Grinevich et al., 2016, Smith et al.,2017).

### **Efectos de la crianza en aislamiento social**

Teniendo en cuenta que la adolescencia es un periodo crítico en el neurodesarrollo, es indispensable brindar a los individuos un contexto social y ambiental que proporcione las herramientas necesarias para el buen desarrollo y la adquisición de los patrones comportamentales sociales necesarios para la supervivencia (Dalh, 2004). De acuerdo con lo anterior, se ha demostrado que las diferentes condiciones de alojamiento a las que son expuestos los animales durante la crianza pueden alterar el adecuado desarrollo de las redes neuronales involucradas en el procesamiento de las conductas sociales y en sus propiedades de incentivo. Por ejemplo, se ha observado que la exposición a estrés o a drogas de abuso durante edades tempranas puede influir en la señalización entre la corteza prefrontal y el núcleo accumbens, dando lugar a conductas relacionadas con la adicción o la depresión (MacAskill et al., 2014; Vialou et al., 2014). En esta misma línea, se ha demostrado que los animales privados del juego durante la infancia y adolescencia son incompetentes socialmente cuando alcanzan la adultez, ya que no aprenden las reglas básicas de la interacción social típica de la especie (Hol et al., 1999; Jones et al., 2001), por ejemplo, mostraron que los animales privados de la posibilidad de juego durante la infancia no demuestran comportamiento aversivo frente a grupos de animales desconocidos aumentando el riesgo de ser atacados (Van de Berg et al., 1999<sup>a</sup>).

Una de las formas más usadas en los laboratorios para evaluar los efectos del estrés crónico social en el comportamiento y en el neurodesarrollo de los animales, es por medio del alojamiento en aislamiento social (Mumtaz et al, 2018). Se ha demostrado que la crianza en aislamiento social se asocia con cambios irreversibles en el funcionamiento cerebral de los animales. Estudios sobre el aislamiento indican que en estos animales se da un aumento

en la sensibilidad a las propiedades de incentivo de diversos estímulos, siendo más propensos a buscar y consumir sustancias psicoactivas como el alcohol (Advani et al, 2007), la nicotina (Cortes-Patiño, 2023a) y la anfetamina (Yates et al., 2013; Whitaker et al, 2013). Además, se han encontrado resultados similares en cuanto a las propiedades de incentivo de la interacción social, siendo así que estudios con el paradigma de condicionamiento de preferencia de lugar (CPP) indican que los animales alojados en condición de aislamiento social son más sensibles al efecto gratificante de la interacción social siendo más evidente este efecto en los animales que son aislados durante la adolescencia (Van den Berg et al., 1999<sup>b</sup> ; Calcagnetti y Schechter, 1992; Douglas et al., 2004; Thiel et al., 2008; Trezza et al., 2009; Peartree et al., 2012).

Yates et al. (2013), realizaron un experimento donde se evaluó el CPP por un estímulo social y por la administración de anfetamina en animales adolescentes y adultos criados en condición de aislamiento social o en pareja. Estos autores encontraron que únicamente el grupo de animales adolescentes criados en aislamiento mostro CPP por un estímulo social, mientras que el CPP por anfetamina se obtuvo en animales aislados en la adolescencia y en la edad adulta. Interessantemente, estos autores también realizaron una prueba donde los animales debían escoger entre pasar tiempo en un compartimiento asociado a interacción social o a la administración de anfetamina, y encontraron que los animales adolescentes aislados prefirieron el compartimiento asociado a interacción social, mientras que los animales criados en grupo escogieron el compartimiento asociado a la droga. Estos resultados coinciden con lo reportado en el estudio ya mencionado de Douglas et al., (2004) quienes también encontraron que el CPP social fue más robusto en los animales adolescentes alojados en aislamiento respecto a los animales adultos en aislamiento y a los animales de ambas edades alojados en grupo.

El aumento en la sensibilidad a las propiedades de incentivo de la interacción social evidenciado en los animales criados en aislados, se ha relacionado con cambios en la actividad del sistema de recompensa cerebral. Algunas investigaciones sugieren que el aislamiento social ocasiona cambios duraderos en la actividad de la dopamina (Hall et al., 1989; Karkhanis et al., 2016; Miura et al., 2022). Un estudio reciente de Karkhanis et al,

(2019) utilizó la técnica de voltamperometría cíclica de barrido rápido en vivo para evaluar la respuesta dopaminérgica en el NAc producto de la estimulación in vivo en el VTA, de animales criados en aislamiento y en grupo. Estos autores encontraron que el aislamiento social ocasionó hiperexcitabilidad en las neuronas dopaminérgicas del VTA generando mayor liberación de dopamina hacia el NAc.

Por otro lado, también se han reportado cambios producto del aislamiento social en la actividad de la oxitocina cerebral, que como se describió previamente juega un papel muy importante en el procesamiento de la recompensa social. Una revisión reciente de Krimberg y colaboradores (2021) mostró que el aislamiento social tiende a disminuir la cantidad de OTR en estructuras como el PVN, el núcleo supraóptico, la CPFm, el NAc, el VTA, el núcleo de la base de la estría terminal y la amígdala central, llevando a alteraciones conductuales como aumentos en la agresión, comportamientos ansiosos, hiperactividad y disminución de comportamientos sociales así como de la memoria social.

Es importante mencionar que si bien, las investigaciones indican que la crianza en aislamiento aumenta la sensibilidad a las propiedades de incentivo de la interacción social, no está claro de que forma el aislamiento social altera la interacción del circuito de recompensa cerebral con la oxitocina proveniente del PVN, ya que el aislamiento parece tener efectos inversos en dichos neurotransmisores. Por lo anterior, un primer acercamiento a los cambios producto del aislamiento en las estructuras clave desde donde se proyectan los principales neurotransmisores implicados en la recompensa social, como la dopamina y la OT, permitirá una mejor comprensión de este complejo sistema y abrirá paso a futuras investigaciones especializadas en su interacción

## Justificación

La adolescencia representa un periodo de gran vulnerabilidad para el desarrollo de conductas de riesgo y trastornos afectivos (Kessler et al., 2005), el Ministerio de Salud y Protección Social reportó que para el año 2022 los trastornos de ansiedad generalizada, fobia social y depresión fueron frecuentes en los adolescentes colombianos. Las diferentes condiciones socioambientales a las que son expuestas las familias colombianas impactan gravemente su salud mental. Y justamente durante la adolescencia es donde se evidencia una mayor sensibilidad ante situaciones emocionales demandantes, Borrás (2014) menciona que la vulnerabilidad generada por contextos estresantes tanto económica como afectivamente coloca a los adolescentes en una situación de riesgo, aumentando la soledad y el aislamiento y además incrementando la probabilidad de desarrollar conductas violentas contra sí mismo o contra los demás (Del pino et al, 2014). En esta misma línea, un estudio de la CEPAL (2022) reportó que dadas a las medidas de confinamiento y aislamiento social obligatorio producto de la pandemia COVID-19 la salud mental de los niñas, niños y adolescentes colombianos empeoró.

Sumado a ello, Benítez et al., (2016) encontraron una relación significativa entre el uso excesivo del internet y los problemas relacionados con el aislamiento social, estos autores mencionan que dado al importante avance tecnológico de los últimos años, cada vez es mayor el tiempo que pasan los jóvenes frente a pantallas móviles, trayendo consigo consecuencias negativas para el desarrollo de su identidad y para el establecimiento de relaciones interpersonales adecuadas. Se ha demostrado que el aislamiento social durante la adolescencia, tiende a causar comportamientos evitativos como alejarse de los demás y evitar la formación de vínculos sociales, además también se ha asociado con presentar esperanzas pocos realistas de las relaciones sociales y fracasos en la satisfacción de sus necesidades de relación con los pares (Cohen et al., 2012).

Teniendo en cuenta esto, los estudios de los efectos neurofisiológicos y comportamentales del aislamiento social sobre las propiedades de incentivo y los cambios en los patrones de las conductas sociales cobran especial importancia, ya que como menciona

## Justificación

Bariselli et al., (2018) indagar sobre el valor incentivo de la interacción social en animales alojados en aislamiento podría resultar beneficioso para los individuos que son afectados por la soledad o el aislamiento. Y si bien, los modelos animales no pueden abarcar la complejidad de la adolescencia humana, sí permiten la evaluación y manipulación de algunas variables concretas que contribuyen a una mejora en la comprensión de estos cambios neuronales y comportamentales (McCormick et al., 2016), que resultan imposibles de controlar en la investigación con humanos.

## Hipótesis

Considerando que la crianza en aislamiento social temprano ha mostrado producir cambios estructurales y funcionales en el circuito de recompensa cerebral, se espera que los animales alojados en aislamiento muestren mayores preferencias por lugares asociados a la interacción social (Yates et al., 2013; Douglas et al., 2004) en la prueba de preferencia de lugar. Así mismo, se espera que este aumento en la sensibilidad a las propiedades de incentivo de la interacción social represente cambios plásticos en las regiones asociadas a la recompensa cerebral, por lo que se propone que la cantidad de la enzima Tirosina Hidroxilasa disponible en las células dopaminérgicas del VTA podría ser más alta en los animales criados en aislamiento y tratados con interacción social respecto a los animales en grupo que recibieron el mismo estímulo incentivo, similar a lo reportado por Karkhanis et al. (2019).

Teniendo en cuenta la revisión de Krimberg et al. (2022) se espera encontrar que los animales aislados presenten una disminución en las células oxitocinérgicas del PVN producto de la privación social. Además, teniendo en cuenta que los estudios que han evaluado los patrones de interacción social entre animales alojados en aislamiento y grupo han mostrado un cambio importante en cuanto a su intensidad y frecuencia, se espera replicar lo encontrado por Douglas et al., (2014) quien demostró que los animales alojados en aislamiento muestran mayores conductas de juego social respecto a los animales alojados en grupo.

## Objetivos

### General

Determinar los efectos del aislamiento social posterior al destete en la actividad de la dopamina y la oxitocina cerebral y en el establecimiento de la preferencia de lugar condicionada por interacción social en ratas Wistar macho adolescentes.

### Específicos

- Determinar el efecto del aislamiento social en el establecimiento de preferencia de lugar condicionada por interacción social en ratas adolescentes.
- Evaluar los efectos de la crianza en aislamiento social en dos comportamientos de interacción social: juego e investigación social.
- Determinar los niveles de oxitocina cerebral en el núcleo paraventricular del hipotálamo tras la finalización del entrenamiento en la tarea de preferencia de lugar condicionada por interacción social.
- Determinar la concentración de tirosina hidroxilasa en el área tegmental ventral de animales criados en aislamiento social tras finalizar el entrenamiento en la tarea de preferencia de lugar condicionada por interacción social.

## Método

### Sujetos

Se emplearon 63 ratas adolescentes macho albinas de la cepa Wistar, suministradas por el Bioterio de Producción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia. Los animales fueron destetados el día posnatal  $21 \pm 1$  e inmediatamente fueron llevados al bioterio del Laboratorio de Neurociencias del Departamento de Psicología. Los animales fueron mantenidos en condiciones estándar de temperatura ( $21-25$  °C) y humedad relativa ( $40 \pm 10\%$ ), con un ciclo luz/oscuridad invertida de 12 horas (luces encendidas a las 6:00 PM).

Tras su llegada al laboratorio, los animales fueron asignados aleatoriamente a las condiciones de alojamiento: grupo (Gp) o aislamiento social (Ais), y se mantuvieron en esa misma condición hasta el final del experimento. Para la condición de grupo, se alojaron cuatro ratas por caja cuidando que no fuesen de la misma camada ni tuviesen diferencias de peso mayores a 15 gr. Para la condición de aislamiento, se alojó un animal por caja.

Para el alojamiento de los animales se usaron cajas de polietileno (48x32x20 cm, ALESCO), con un encamado de viruta esterilizada por autoclave de aproximadamente 4 cm de altura que fue cambiado dos o tres veces a la semana. Durante todo el experimento los animales tuvieron acceso a agua y comida *ad libitum*, fueron pesados cada tres días durante la fase de crianza y diariamente durante la fase experimental. Todos los procedimientos experimentales se llevaron a cabo entre las 8:00 AM y las 4:00 PM.

### Diseño

Para este estudio fue propuesto un diseño factorial 2x2, en el que se evaluaron los efectos del tipo de crianza en el establecimiento de la preferencia de lugar condicionada por interacción social. El primer factor fue la condición de crianza (en grupo o en aislamiento social) y el segundo factor fue la exposición a interacción social (presencia o ausencia). Los animales asignados a cada condición de crianza (grupo o aislamiento social) fueron divididos

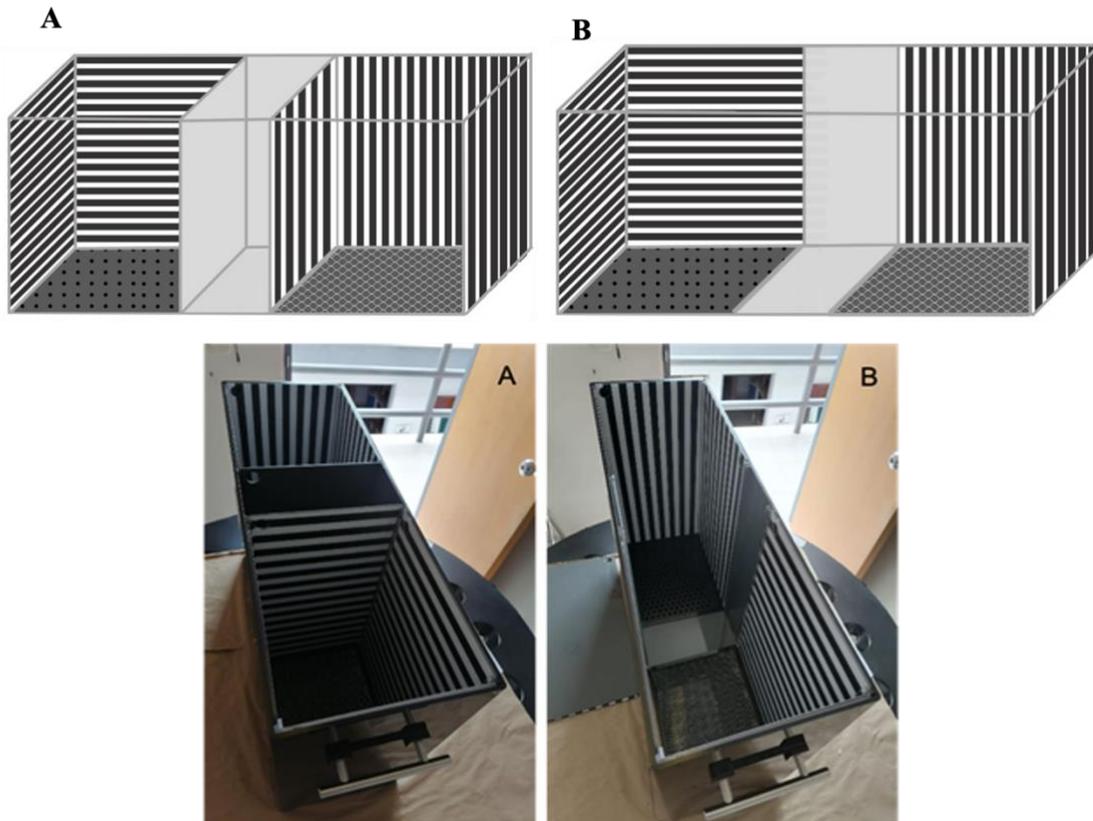
en dos grupos que diferían en la posibilidad de ser expuestos o no, a interacción social durante las sesiones de condicionamiento. De esta forma, se contó con cuatro grupos experimentales: Gp - NoSoc: Animales criados en grupo que no fueron expuestos a interacción social durante las sesiones de condicionamiento; Gp - Soc: Animales criados en grupo que fueron expuestos a interacción social durante las sesiones de condicionamiento; Ais – NoSoc: Animales criados en aislamiento que no fueron expuestos a interacción social durante las sesiones de condicionamiento y Ais - Soc: Animales criados en aislamiento que fueron expuestos a interacción social durante las sesiones de condicionamiento.

## **Instrumentos y equipos**

### **Caja de Condicionamiento de Lugar**

Para evaluar la preferencia condicionada de lugar se utilizaron dos cajas de acrílico, compuestas por tres compartimentos divididos por placas removibles (ver Figura 3). Los compartimentos se diferenciaban por el tipo de piso y el color de las paredes. Uno de los compartimentos tenía paredes con líneas blancas y negras de forma horizontal y piso de acero con textura de agujeros. El segundo compartimento tenía paredes con líneas blancas y negras de forma vertical y piso de aluminio con textura de malla. El compartimento central que funcionaba como zona de transición entre los dos compartimentos laterales, tenía las paredes y el piso de acrílico gris. Para las sesiones de pretest y test las placas que dividían los compartimentos fueron retiradas para permitir el paso de un compartimento a otro.

El acceso a interacción social fue utilizado como un estímulo incondicionado, los animales fueron expuestos durante las sesiones de condicionamiento a un mismo conespecífico, para ello se formaron parejas experimentales dentro de cada grupo, cuidando que no tuvieran diferencias de peso mayores a 15 gramos y que no provinieran de la misma camada. Para los animales en grupo, también se cuidó que no estuvieran alojados en la misma caja hogar.

**Figura 4.***Caja de preferencia de lugar condicionada*

Nota: Gráfico y fotografía de la caja de condicionamiento de preferencia de lugar. A. Instrumento con placas removibles utilizado para sesiones de condicionamiento. B. Instrumento sin placas removibles utilizado para pruebas de habituación, pretest y test.

**Equipos**

***Criostato.*** Se utilizó con un criostato Leica CM1850 para obtener los cortes coronales de las muestras del tejido cerebral.

***Microscopio.*** Se utilizó un microscopio confocal (Nikon Instruments Inc., Melville, NY, EE. UU.) para capturar las imágenes de los cortes coronales, utilizando un objetivo de 20x y el láser Argón 288.

## Procedimientos

### Preferencia de lugar condicionada

El procedimiento de preferencia de lugar condicionada inició el DP 33 y terminó el DP 45 (Tabla 1). Consta de 4 fases: habituación, línea de base, condicionamiento y prueba. Todas las sesiones duraron 10 minutos y fueron grabadas para su posterior análisis. Al finalizar cada sesión, las cajas eran limpiadas con alcohol al 7% para eliminar rastros de olor. Para minimizar el estrés producidos por los procedimientos experimentales, las ratas fueron manipuladas diariamente durante tres minutos entre los DP 30 y 32.

**Tabla 1. Diseño experimental y línea de tiempo.**

Crianza	Man	Hab	Línea de Base	CS +	CS- /Alt	CS +	CS- /Alt	CS- /Alt	CS +	CS- /Alt	CS+ /PF	Prueba
DP 21-29	30-32	33-34	35	37	38	39	40	41	42	43	44	45

*Nota.* (Man) manipulación. (Hab) habituación. (CS) sesiones de condicionamiento. (Alt) exposición a ambiente alternativo. (PF) perfusión. El día DP 36 no se realizó ningún procedimiento.

#### *Habituación*

Los DP 33 y 34 los animales fueron llevados a la sala experimental y puestos en el compartimento central de la caja CPP e inmediatamente después se retiraron las placas removibles, permitiendo la libre exploración de todo el instrumento (ver Figuras 3B). Finalizados los diez minutos, los animales fueron retirados de la caja de condicionamiento y llevados al bioterio. La habituación se realizó con el objetivo de familiarizar a los animales con la caja de condicionamiento.

#### *Línea de base*

El DP 35 los animales fueron llevados a la sala experimental y se realizó el mismo procedimiento descrito en la fase de habituación. La actividad del animal fue grabada para evaluar la permanencia en cada uno de los compartimentos previa al condicionamiento. Se estableció como criterio de permanencia en un compartimento tener mínimo el 85% del

cuerpo adentro . La preferencia por uno de los compartimientos fue determinada a partir del análisis del tiempo total en cada uno de los compartimientos: el compartimiento donde el animal pasó más tiempo se seleccionó como lugar preferido.

### ***Adquisición***

Durante los DP 37 al 44 se realizaron sesiones diarias de condicionamiento, para lo cual se utilizó un protocolo sesgado en el que el estímulo incondicionado (interacción social) se asoció con el lado inicialmente no preferido. En los días denominados CS+ los animales de los grupos con interacción social (Gp - Soc y Ais - Soc) fueron confinados en el lado no preferido por diez minutos junto a otro animal. Los animales del grupo sin interacción social (Gp - NoSoc y Ais - NoSoc) fueron ubicados individualmente en el lado no preferido del instrumento. Los días denominados CS- todos los animales fueron ubicados individualmente en el lado preferido por diez minutos. Finalizados los 10 minutos de cada sesión, los animales fueron retirados de la caja de condicionamiento y ubicados en su respectiva caja hogar. Durante el procedimiento se alternaron las sesiones de CS+ y CS-, a excepción de los días posnatales 40 y 41 cuando se realizaron dos sesiones CS- con la finalidad de terminar el día posnatal 44 con una sesión de CS+, para la toma de muestras cerebrales (ver Tabla 1).

Para controlar la historia de exposición al estímulo social y asegurar que el cambio en la permanencia se debería a una asociación de interacción social con las características ambientales del comportamiento no preferido, las ratas que no fueron expuestas a interacción social durante los CS+, fueron confinadas durante 10 minutos con otro animal en un ambiente alternativo (caja con condiciones similares a la caja hogar) dos horas después de los CS-. Las ratas que fueron expuestas a interacción social durante los CS+, eran ubicadas individualmente en el ambiente alternativo (ver Figura 4).

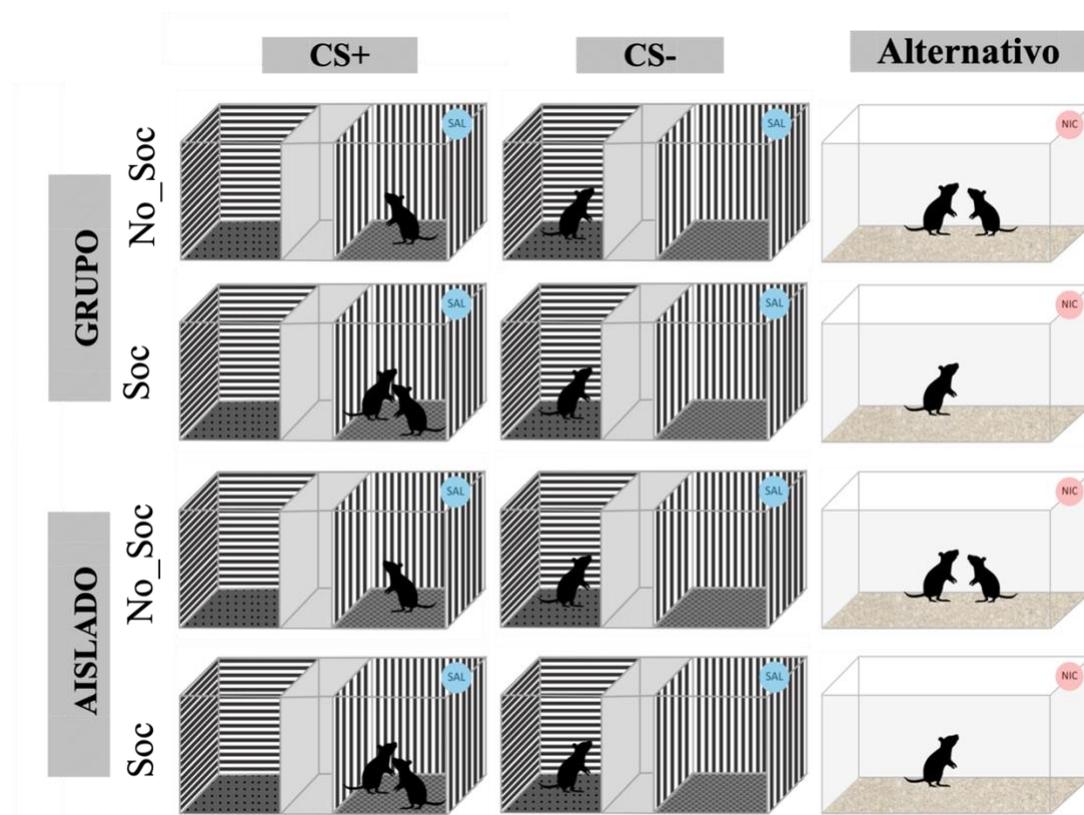
Es importante mencionar que los animales utilizados en los experimentos que hacen parte de la presente tesis eran parte de un proyecto titulado “Evaluación conductual y neurobiológica del estrés social temprano como modulador de la interacción entre nicotina y refuerzo social en ratas adolescentes”, razón por la cual todos fueron inyectados diariamente con una dosis de 0,1 mg/kg de nicotina (base libre) antes de la exposición al ambiente

alternativo. Para la preparación de la droga se utilizó tartrato de nicotina (Glentham Life Sciences, GL9693) que fue disuelto en solución salina 0.9% (Quibi, ATC B05XA03). Teniendo en cuenta que el porcentaje de nicotina de esta sal es solo del 35%, la concentración 0.1 mg/kg fue ajustada utilizando la corrección de Matta (2006). Una vez disuelta se niveló el pH con NaOH 0.1M hasta alcanzar niveles fisiológicos (pH ~7.4). Los volúmenes de inyección fueron calculados a partir del peso corporal de cada sujeto, con dosis de 1 ml/kg.

En la Figura 5, se observan los grupos experimentales y los estímulos a los cuales fueron expuestos durante las sesiones de condicionamiento. Dado que todos los animales recibieron el mismo tratamiento farmacológico, se espera que este no interfiera con las variables de condición de crianza e interacción social.

### Figura 5.

*Sesiones de condicionamiento*



Nota: Estímulos a los que son expuestos los animales en cada sesión de condicionamiento. (SAL) inyección de solución salina. (NIC) inyección de nicotina.

### ***Prueba***

El DP 45, se realizó la prueba de preferencia condicionada de lugar, para lo cual los sujetos fueron ubicados individualmente en el compartimento central de la caja e inmediatamente después se retiraron las placas removibles. Se evaluó nuevamente la preferencia de lugar a partir del tiempo de permanencia en cada compartimento, tal como se describió en la fase de pretest.

### **Evaluación de comportamiento de interacción social**

Para la evaluación de las conductas de interacción social se grabaron y analizaron la primera y última sesiones de condicionamiento (CS+) de los grupos con acceso a interacción social (Gp-Soc y Ais-Soc). Fueron cuantificadas la frecuencia y la duración de los comportamientos sociales con ayuda del software X-Plo-Rat (2005). Toda la codificación conductual fue realizada por dos evaluadores ciegos a las condiciones de crianza de los animales y se estableció un acuerdo de observadores mayor al 90%, calculado con el índice de concordancia (min/máx. /100).

La codificación conductual se dividió en las categorías de juego e investigación social, ya que son los comportamientos sociales más evidentes en esta época del desarrollo (Pellis & Mckenna, 1995). Para el análisis de la interacción social, se tuvieron en cuenta los comportamientos realizados por pareja experimental, es decir iniciados o mantenidos por cualquiera de los dos animales, por tanto, los datos cuantificados se refieren a la pareja y no al individuo.

Para el análisis de las observaciones, los comportamientos fueron operacionalizados de la siguiente manera: el juego social incluyó (a) abalanzar -cuando un animal se acerca o toca con el hocico el cuello del compañero (b) inmovilizar -cuando un animal está tumbado boca arriba con el compañero de pie sobre él e invierten la posición y (c) perseguir -cuando un animal corre o se aleja rápidamente del atacante y el otro animal le persigue. La investigación social incluyó (a) olfatear o acercar las vibrisas a alguna parte del cuerpo del

compañero y (b) la detección anogenital -cuando un animal acerca su hocico hacia la zona genital del otro con la finalidad de olfatearlo (ver Anexo 1).

### **Procedimientos para análisis histológico**

Para la evaluación de los niveles de tirosina hidroxilasa y oxitocinaOT cerebral, se seleccionaron aleatoriamente cinco animales de cada uno de los cuatro grupos experimentales.

#### ***Perfusión transcardiaca***

Noventa minutos después de la última sesión de condicionamiento (CS+) los animales fueron profundamente anestesiados con una inyección intraperitoneal del anestésico de punto final uretano (1.6 gr/kg). Una vez que los animales no presentaban reflejos ni signos de dolor, se realizó una incisión a lo largo del tórax con el fin de exponer el corazón y ubicar una cánula en el ventrículo izquierdo en la arteria aorta, por medio de la cual se pasaron aproximadamente 120 mL de una solución salina taponada con fosfato 0,01M, seguidos de aproximadamente 120 mL de solución de paraformaldehído al 4%(PFA) preparada en PBS 0.01 M con pH de 7.4. Al completar la perfusión, se removieron los cerebros del cráneo y se sumergieron en 15 mL de PFA por un periodo de 6 horas a 4°C para el proceso de posfijación. Pasadas las 6 horas se retiró el PFA y los cerebros se sumergieron en 15 mL de soluciones de sacarosa de concentraciones decrecientes de 30%, 20% y 15% durante tres días con la finalidad de proteger el tejido de las bajas temperaturas.

Posteriormente, los cerebros se congelaron rápidamente por inmersión en 2-metilbutano (-70 °C), para ser luego seccionados coronalmente en rodajas de 50 µm, y almacenados a -20°C en solución anticongelante para su posterior procesamiento por medio de ensayos de inmunofluorescencia.

#### ***Inmunofluorescencia***

Para la evaluación de los efectos de las condiciones experimentales en el funcionamiento cerebral, se evaluaron dos marcadores: tirosina hidroxilasa y OT, para cada uno se realizaron ensayos separados de inmunofluorescencia. Para la evaluación de la

actividad de la hormona oxitocinaOT se cuantificaron las células inmunopositivas para oxitocinaOT con el anticuerpo anti- oxitocinaOT (1:500; Sigma Aldrich, MAB5296) en núcleo PVN, utilizando dos cortes por sujeto correspondientes a la coordenada anteroposterior -1.80 mm posterior a bregma (Paxinos & Watson, 2018). Para la evaluación de los posibles efectos de los tratamientos en la actividad dopaminérgica de circuito mesolímbico, se cuantificó la cantidad de TH disponible en el citoplasma de las células del VTA, con el anticuerpo anti-Tirosina Hidroxilasa (1:500, Sigma Aldrich, T1299) en dos cortes por sujeto correspondientes a la coordenada anteroposterior -5.4 mm con relación a bregma (Paxinos & Watson, 2018).

Los cortes seleccionados se lavaron tres veces con TBS 1X por 5 min, se permeabilizaron y se bloquearon las uniones inespecíficas con el buffer de bloqueo durante 60 min. A continuación, se incubaron los anticuerpos primario Anti-TH o Anti- oxitocina por 36 h a 4°C. Posterior a ello, se realizaron cuatro lavados con T-TBS 1X, por 5 min y se añadió el anticuerpo secundario Alexa Flúor 488 (1:500; Invitrogen) durante 60 min. Finalizado este tiempo, se enjuagó cinco veces con T-TBS 1X, se montaron los cortes en láminas previamente gelatinizadas y marcadas, y se cubrió las láminas con la solución de montaje. El montaje de las láminas se realizó en la oscuridad y las láminas fueron almacenaron a 4°C.

### ***Análisis de imagen***

Las imágenes fueron capturadas con un microscopio confocal, utilizando un objetivo de 20x y el láser Argón 288. Se seleccionó uno de los cortes por cada marcador, se determinó la estructura de interés y se tomó una foto por cada hemisferio teniendo en cuenta las coordenadas del Paxinos previamente establecidas. Adicionalmente, se tomó una foto de uno de los hemisferios del segundo corte, con el propósito de tener un recurso adicional en caso de evidenciar algún daño en el tejido principal. El tamaño de la imagen seleccionada para cada área fue similar en todas las muestras y se utilizaron los mismos parámetros de cuantificación para todos los sujetos. Los valores de la intensidad de fluorescencia se calcularon mediante la densidad integrada, para ello se realizó la medición de la intensidad del fondo, se promedió y se restó de la intensidad total. Los valores de la densidad integrada

(IntDen) y el número de células inmunopositivas para cada marcador fueron promediados por el número de fotos por sujeto. Cada imagen fue analizada semicuantitativamente utilizando el software ImageJ.

### **Análisis de datos**

Con la finalidad de evaluar si las diferentes condiciones de crianza alteraban el tiempo en cada compartimiento durante la línea de base, se utilizó un ANOVA para medidas repetidas, con cada compartimiento (laterales y central) como factor intragrupo y los cuatro grupos experimentales (Gp – NoSoc / Gp- Soc / Ais – NoSoc / Ais - Soc) como factor entre grupos.

Para la evaluación del establecimiento de la preferencia condicionada de lugar se realizó un ANOVA de tres factores para medidas repetidas (2x2x2) con el tiempo en el lugar no preferido en las dos sesiones (línea de base y test) como factor intragrupo, y la condición de alojamiento y la exposición a interacción social como factores entre grupos. Un aumento significativo en el tiempo de permanencia en el lugar no preferido durante la línea de base y la prueba fue considerada evidencia de condicionamiento. Adicionalmente para evaluar los cambios en la distribución del tiempo en los compartimientos preferido y centro, se realizaron análisis de varianza para cada compartimiento, con el tiempo en el centro o en el lugar preferido en las dos sesiones (línea de base y test) como factor intragrupo, y la condición de alojamiento y la exposición a interacción social como factores entre grupos. Al contar con variabilidad en el tamaño de los grupos, se realizó una corrección a la suma de cuadrados.

Con base en la predicción a priori respaldada por la teoría de que las condiciones de crianza afectan las propiedades de incentivo de la interacción social, se realizó un análisis de contrastes comparando el tiempo en lado no preferido entre el pretest y la prueba para los grupos experimentales condicionados con interacción social. Se esperaba que el grupo en condición de aislamiento aumentara significativamente el tiempo en el lado no preferido tras el condicionamiento.

Para evaluar si la condición de alojamiento alteraba los patrones conductuales de la interacción social, se realizó un ANOVA mixto para medidas repetidas de dos factores (2x2)

para cada categoría: juego e investigación social; con la condición de crianza como factor entre sujeto y las sesiones (primera frente a última) como factor intragrupo, se realizaron análisis post hoc y se corrigió el valor p con el método de Tukey. Para la conducta de investigación social se utilizó un ANOVA mixto no paramétrico de dos factores, usando una prueba de rangos (2x2) de Wilcoxon, ya que los datos no cumplían con los supuestos de normalidad.

Adicionalmente, se llevó a cabo una correlación de Spearman para evaluar si existía una relación entre la interacción social y el condicionamiento de preferencia de lugar. Esta correlación se realizó para cada condición de alojamiento y se analizó con el delta del CPP (calculado como tiempo en el lado no preferido durante el test – el tiempo en el lado no preferido durante el pretest), y con el tiempo bruto de juego registrado durante la última sesión de CS+. Para las correlaciones se utilizó una escala de fuerza de correlación de acuerdo con la literatura: fuerte (-0.70,-1 / 0.70,1), moderada (-0.40, -0.69 / 0.40, 0.69), débil (-0.10, -0.39 / 0.10, 0.39) e insignificante (-0.10 / 0.10).

Para evaluar la actividad del circuito mesolímbico de dopamina y la actividad de la oxitocina cerebral, se realizó un ANOVA de dos factores (2x2) para cada marcador, con la condición de alojamiento y la interacción social como factores entre sujetos. Se realizaron análisis post hoc y se corrigió el valor p con el método de Holm. Para todas las variables se evaluaron los supuestos de normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk, la esfericidad con la prueba de Mauchly y todos los análisis de varianza que no cumplían con la esfericidad fueron corregidos con Greenhouse-Geisser. Se utilizó un nivel de significancia de  $p < 0,05$  para todos los análisis y comparaciones. Para los ANOVAS se reporta el tamaño del efecto usando  $\eta^2$  parcial cuadrado ( $\eta_p^2$ ), ya que según la literatura (Goss-Sampson, 2019), es la medida que mejor se ajusta cuando se tiene una muestra pequeña para obtener un tamaño del efecto sin sesgo. Los rangos se definieron de acuerdo con la literatura: tamaño del efecto pequeño  $\leq 0.01$ ; tamaño del efecto medio  $\leq 0.06$  y tamaño del efecto alto  $\leq 0.14$ .

El registro comportamental del experimento fue realizado con el programa X-Plo-Rat y todos los análisis estadísticos se realizaron con los softwares JASP (JASP, 2023), SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, 2021) y RStudio (RStudio team, 2021)

### **Consideraciones éticas**

Los procedimientos del presente estudio se acogen bajo los lineamientos de: la Ley 1090 de 2006, donde se reglamenta el ejercicio de la profesión de psicología, especialmente del título dos, artículo 10, que habla sobre el cuidado y uso de animales para desarrollar el conocimiento de los principios básicos de la conducta y contribuir a la mejorara de la salud y el bienestar del hombre; la Ley 84 de 1989 del Congreso de Colombia, por la cual se adopta el estatuto nacional de protección de los animales en el capítulo VI, donde se establece que los experimentos deben estar orientados hacia el avance de la ciencia y nuevo conocimiento y garantizar el bienestar de los animales evitando que sufran dolor, y en lo establecido en la resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia, en la cual se disponen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud cumpliendo con los requisitos para llevar a cabo investigación biomédica con animales

Así mismo, se rige según la octava versión de la “Guide for the care and use of laboratory animals” (2011), la cual provee información y estatutos para el cuidado y el uso de animales de laboratorio procurando el bienestar de los animales, la calidad de la investigación y el avance del conocimiento, siguiendo el método práctico de las Tres rs: reemplazo, refinamiento y reducción. Todo el personal a cargo del cuidado y manejo de los animales utilizado para el presente trabajo contó con formación específica para los procedimientos realizados. Para garantizar la seguridad de los investigadores y de los animales, todos los procedimientos se realizaron con el correcto uso de implementos de bioseguridad como la bata, guantes de nitrilo y tapabocas. Todos los residuos producidos en el presente estudio fueron desechados según los protocolos de manejo de residuos establecidos por la Oficina de Gestión Ambiental de la Sede Bogotá en la Universidad Nacional de Colombia. Todos los procedimientos fueron sometidos a la consideración del Comité de Ética de la Facultad de Ciencias Humanas (B.VIE-FCH-33-2019), conformado según lo estipulado en la resolución 2378 de 2008 del Ministerio de Protección social sobre Buenas Prácticas.

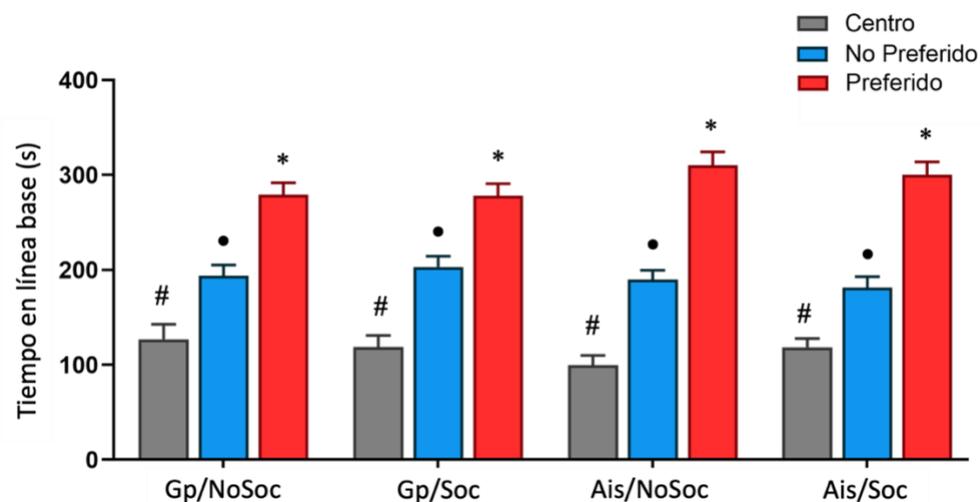
## Resultados

### Condicionamiento de lugar

Para evaluar que no existieran posibles diferencias iniciales en cuanto a la distribución del tiempo entre los compartimientos (laterales y centro) entre los grupos experimentales, se realizó un ANOVA mixto de dos factores para medidas repetidas (ver Figura 6). Los resultados muestran que los animales en general presentaban diferencias en el tiempo que pasaban en cada compartimiento ( $F_{(2,43)} = 135.247, p < 0.05, \eta_p^2 = 0.776$ ) y comparaciones post hoc mostraron que el tiempo de permanencia en el compartimiento preferido es mayor que el tiempo en el compartimiento central ( $p < 0.05$ ) y en el compartimiento no preferido, ( $p < 0.05$ ) y el tiempo en este último es mayor que el tiempo en el compartimiento central ( $p < 0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas entre los grupos experimentales ( $F_{(3,43)} = 0.00, p > 0.05, \eta_p^2 = 0.000$ ), ni interacción entre grupo y compartimiento ( $F_{(6,43)} = 1.006, p > 0.05, \eta_p^2 = 0.072$ ).

#### Figura 6.

*Distribución del tiempo en cada compartimiento durante la línea de base.*



*Nota:* La gráfica muestra los promedios de los tiempos de permanencia en cada compartimiento durante la línea de base. (\*)  $p < 0.05$  diferencias respecto al compartimiento no preferido y centro. (•)  $p < 0.05$  diferencias respecto al compartimiento preferido y centro. (#)  $p < 0.05$  diferencias respecto al compartimiento preferido y no preferido. Mean  $\pm$  SEM

En cuanto a la preferencia condicionada de lugar, el ANOVA mixto de tres factores con los tiempos brutos en el compartimiento no preferido (ver Figura 7, A) evidenció un efecto del factor sesión ( $F_{(1,43)} = 11.038, p < 0.05, \eta_p^2 = 0.221$ ) y una tendencia con un tamaño del efecto grande, en la interacción entre sesión x interacción social ( $F_{(1,43)} = 3.246, p = 0.079, \eta_p^2 = 0.077$ ). Comparaciones post hoc, mostraron que los animales condicionados con interacción social aumentaron el tiempo en el lado no preferido durante la prueba respecto a la línea de base ( $p < 0.05$ ). Adicionalmente, con el propósito de corroborar la hipótesis principal del efecto de la crianza en asilamiento sobre las propiedades de incentivo de la interacción social, se realizaron comparaciones intra-grupos con pruebas de contrastes y se encontró que únicamente el grupo Ais/So aumentó significativamente el tiempo en el lado no preferido durante la prueba, respecto a su línea de base ( $t = -3.752, p < 0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas en los demás grupos experimentales: Gp/NoSoc ( $t = 0.244, p > 0.05$ ); Gp/Soc ( $t = -1.285, p > 0.05$ ); Ais/NoSoc ( $t = -1.394, p > 0.05$ ).

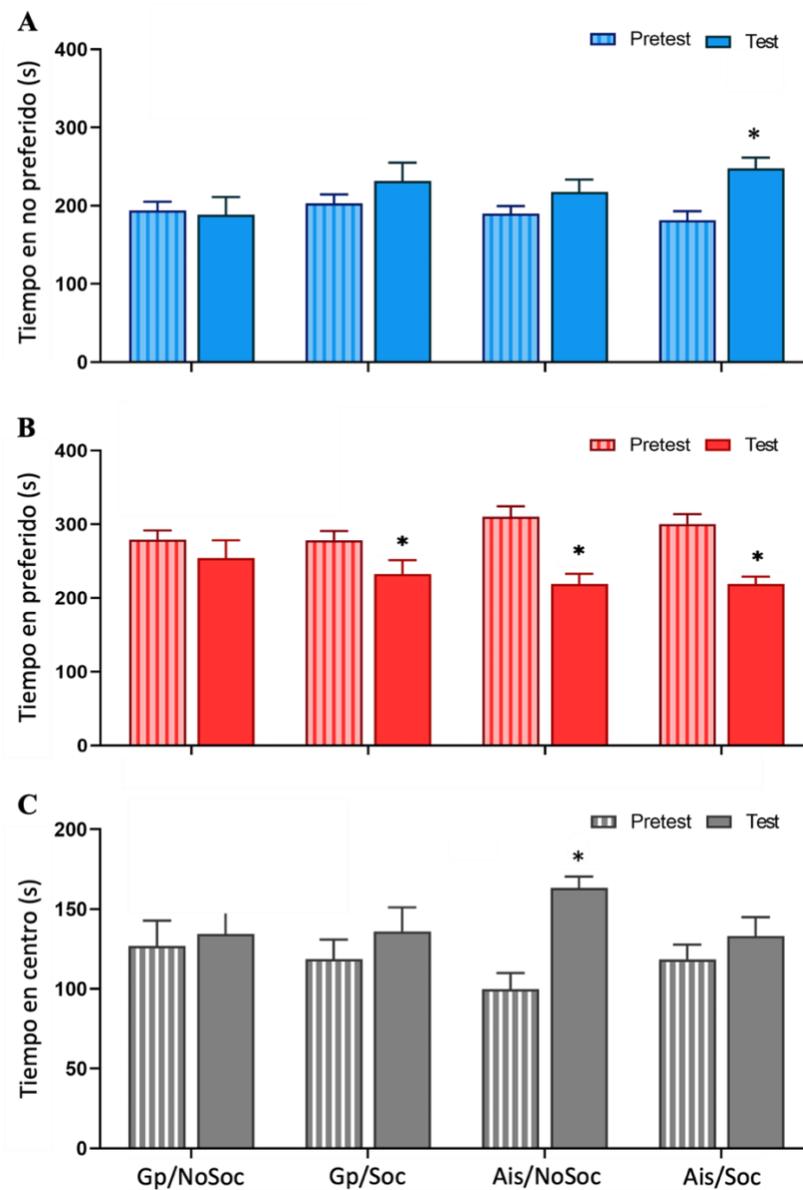
Con el objetivo de evaluar cuanto tiempo pasaban los animales en los demás compartimientos tras el condicionamiento, se realizaron ANOVA mixtos de tres factores para medidas repetidas. En cuanto al compartimiento preferido (Figura 7, B), se encontró un efecto general del factor sesión ( $F_{(1,43)} = 53.780, p < 0.05, \eta_p^2 = 0.580$ ) y una interacción sesión x condición ( $F_{(1,43)} = 7.763, p < 0.05, \eta_p^2 = 0.166$ ). Comparaciones intra-grupos por pruebas de contrastes indicaron una disminución en el tiempo de permanencia en el compartimiento preferido durante el test respecto a la línea de base en los grupos Gp/Soc ( $t = -2.379, p < 0.05$ ), Ais/NoSoc ( $t = -5.242, p < 0.05$ ) y Ais/So ( $t = -5.247, p < 0.05$ ). No se encontraron diferencias en el grupo Gp/NoSoc ( $t = -1.311, p > 0.05$ ).

Respecto al tiempo en el compartimiento central (Figura 7, C), el ANOVA reveló un efecto de sesión ( $F_{(1,43)} = 20.395, p < 0.05, \eta_p^2 = 0.343$ ), una interacción de sesión x condición de alojamiento ( $F_{(1,43)} = 4.522, p < 0.05, \eta_p^2 = 0.104$ ), una interacción sesión x interacción social ( $F_{(1,43)} = 4.227, p < 0.05, \eta_p^2 = 0.098$ ) y una interacción sesión x condición de alojamiento x interacción social ( $F_{(1,43)} = 6.184, p < 0.05, \eta_p^2 = 0.137$ ). Comparaciones post

hoc revelaron un aumento significativo en el tiempo de permanencia en el compartimento central durante el test respecto a la línea de base únicamente en el grupo Ais/NoSoc ( $p < 0.05$ ).

### Figura 7.

*Tiempo en cada compartimiento durante el pretest y test*



Nota: Promedio por grupo de los tiempos de permanencia en cada compartimiento durante la línea de base y la prueba. A. Tiempo en el compartimiento no preferido. B. Tiempo en el compartimiento preferido. C. Tiempo en el compartimiento central. (\*)  $p < 0.05$  diferencias con respecto la línea de base. Mean  $\pm$  SEM.

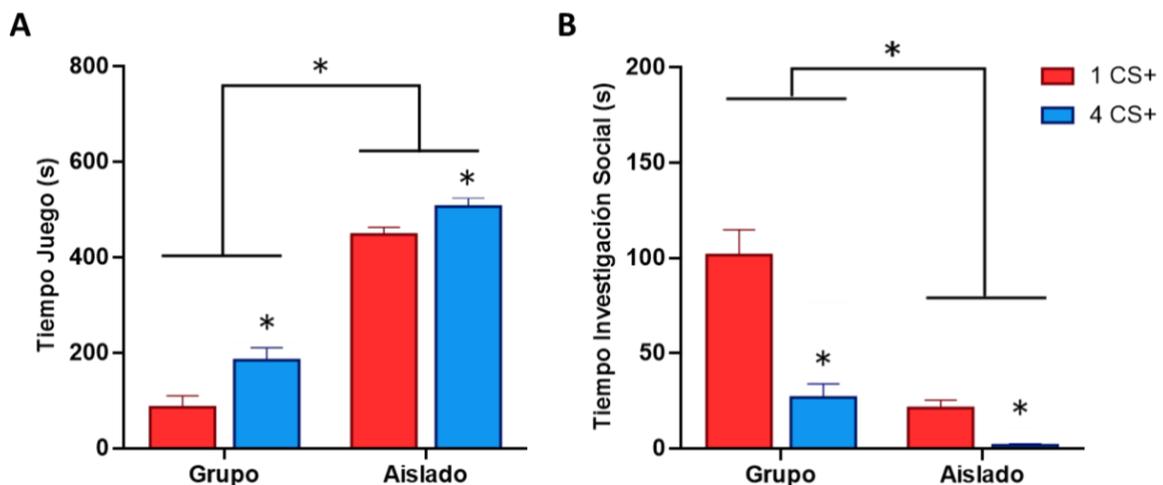
### Patrones de interacción social

El ANOVA mixto de medidas repetidas de dos factores para las conductas de juego evidenció que para ambas condiciones de crianza el juego aumentó en la cuarta sesión de entrenamiento respecto a la primera ( $F_{(1, 20)} = 19.469, p < 0.05, \eta_p^2 = 0.520$ ). Además, se encontró que el grupo criado en condición de aislamiento social permaneció más tiempo jugando durante las dos sesiones, en comparación con los animales criados en la condición de grupo ( $F_{(1, 20)} = 203.798, p < 0.05, \eta_p^2 = 0.919$ ) (ver Figura 8, A). No se encontró interacción entre sesión x condición de alojamiento ( $F_{(1, 20)} = 1.283, p > 0.05, \eta_p^2 = 0.067$ ).

En cuanto a las conductas de investigación social, el ANOVA mixto no paramétrico de medidas repetidas de dos factores (ver Figura 8, B), evidenció que para ambas condiciones de crianza el tiempo de investigación fue menor en la cuarta sesión de condicionamiento respecto a la primera sesión ( $F_{(1, 20)} = 73.402, p < 0.05$ ). Además, se encontró que el grupo en condición de aislamiento social permaneció menos tiempo realizando conductas de investigación que los animales en la condición de grupo ( $F_{(1, 20)} = 77.044, p < 0.05$ ).

### Figura 8.

Tiempo dedicado a interacciones sociales en primer y última sesión de condicionamiento

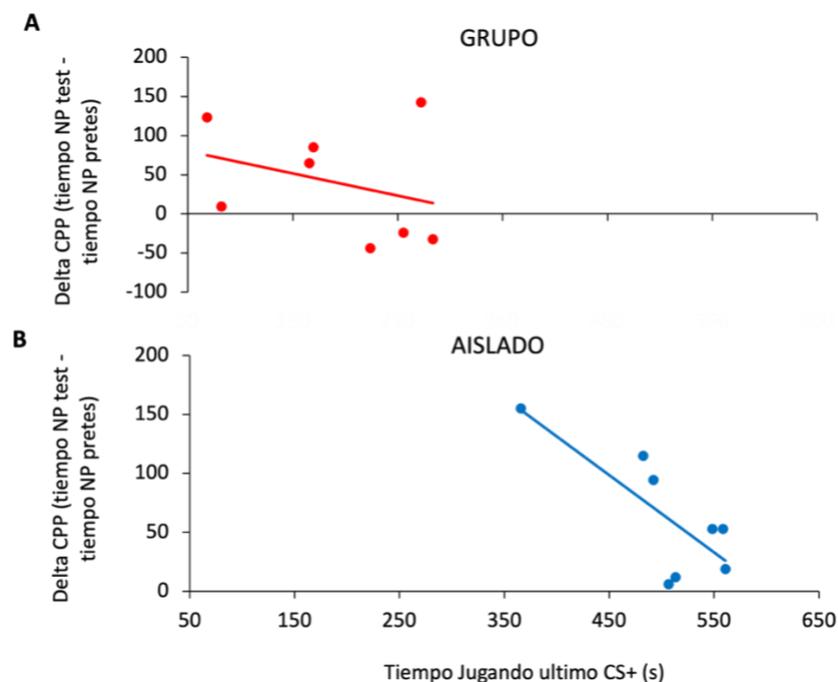


Nota: Promedio de tiempos dedicados a cada comportamiento de interacción social durante la primera y última sesión de condicionamiento. A. Tiempo dedicado a conductas de juego. B. Tiempo dedicado a conductas de investigación social. (\*)  $p < 0.05$ . Mean  $\pm$  SEM.

Adicionalmente, se incluyó un análisis de correlación de Spearman para cada condición de alojamiento, con el objetivo de evaluar la relación entre los tiempos de juego en la última sesión de condicionamiento y el delta del CPP (tiempo en lado no preferido en test – tiempo en lado no preferido en pretest) (ver Figura 9). Los resultados muestran que para los animales criados en aislamiento se encontró una correlación moderada negativa no significativa ( $\rho = -0.595$ ,  $p > 0.05$ , IC del 95% [0.189 a -0.916]) entre el tiempo de juego en la última sesión de condicionamiento y el delta del CPP. Mientras que para los animales en grupo se encontró una correlación débil también negativa y no significativa ( $\rho = -0.310$ ,  $p > 0.05$ , IC del 95% [0.615 a -0.926]). Adicionalmente, se realizó un análisis de correlación con el coeficiente de preferencia [(lado no preferido – lado preferido)/(lado no preferido + lado preferido)\*100] utilizado en la investigación de Douglas et al., (2004) y el tiempo bruto de juego y se encontró los mismos resultados (ver Anexo 5).

### Figura 9.

Correlación entre las conductas de juego y delta del CPP



Nota: Correlaciones entre el tiempo jugando en última sesión de CS+ y el Delta del CPP. A. Animales criados en grupo. B. Animales criados en aislamiento. Cada punto representa una pareja experimental.

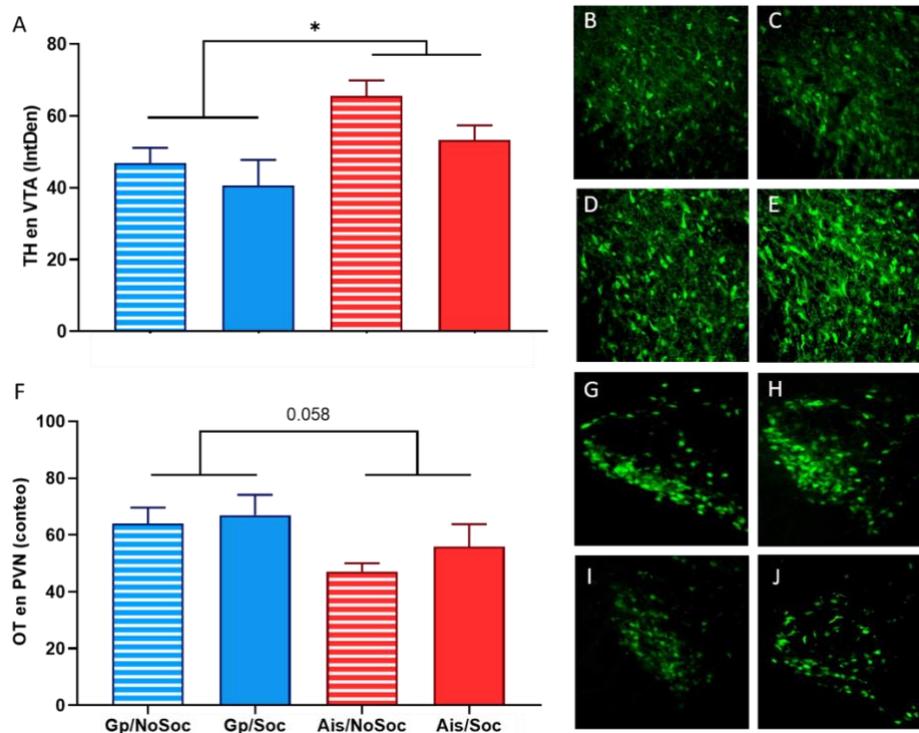
**Evaluación de la actividad del circuito de recompensa cerebral y la oxitocina cerebral**

En cuanto a la evaluación de la TH, el ANOVA de dos factores con la densidad integrada reveló únicamente un efecto de la condición de alojamiento ( $F_{(1, 20)} = 9.367$ ,  $p < 0.05$ ,  $\eta_p^2 = 0.369$ ) y comparaciones post hoc, revelaron un aumento en los niveles de TH citoplasmática en aislados respecto a los animales en grupo ( $p < 0.05$ ). No se encontró efecto del factor de la exposición a la interacción social ( $F_{(1, 20)} = 3.258$ ,  $p > 0.05$ ,  $\eta_p^2 = 0.169$ ), ni interacción entre la condición de crianza x la exposición a interacción social ( $F_{(1, 20)} = 0.349$ ,  $p > 0.05$ ,  $\eta_p^2 = 0.021$ ). Lo cual indica que el alojamiento en aislamiento social aumentó la cantidad de tirosina hidroxilasa citoplasmática en las células del área tegmental ventral VTA (ver Figura 10, A).

En cuando a la evaluación de las células positivas para oxitocina (ver Figura 10, D), se encontró que el aislamiento social tiende a disminuir la cantidad de células positivas para OT en el núcleo paraventricular del hipotálamo. El ANOVA de dos factores con el conteo de las células inmunopositivas reveló una tendencia con un tamaño del efecto grande, de la condición de alojamiento ( $F_{(1, 18)} = 4.274$ ,  $p = 0.058$ ,  $\eta_p^2 = 0.234$ ). No se encontró efecto de la interacción social ( $F_{(1, 18)} = 0.769$ ,  $p > 0.05$ ,  $\eta_p^2 = 0.052$ ) o una interacción entre condición de alojamiento e interacción social ( $F_{(1, 18)} = 0.189$ ,  $p > 0.05$ ,  $\eta_p^2 = 0.013$ ). Lo cual indica que el aislamiento social tiende a disminuir la cantidad de células positivas para oxitocina en el núcleo paraventricular del hipotálamo.

**Figura 10.**

*Marcadores biológicos del circuito de recompensa cerebral.*



Nota: Gráficas de promedios y fotos ilustrativas de los marcadores tirosina hidroxilasa (TH) y oxitocina (OT) por grupo experimental. A. Valores de la densidad integrada para TH en VTA. B. Imagen representativa de animales del grupo Gp-NoSoc. C. Imagen representativa del grupo Gp-Soc. D. Imagen representativa del grupo Ais-NoSoc. E. Imagen representativa del grupo Ais-Soc. F. Valores del número de células inmunopositivas para oxitocina en el PVN. G. Imagen representativa de animales del grupo Gp-NoSoc. H. Imagen representativa del grupo Gp-Soc. I. Imagen representativa del grupo Ais-NoSoc. J. Imagen representativa del grupo Ais-Soc. (\*)  $p < 0.05$  diferencias por condición de crianza. Mean  $\pm$  SEM

## Discusión

El presente experimento evaluó los efectos del aislamiento social posterior al destete en la actividad de la dopamina y la oxitocina cerebral y en el establecimiento de la preferencia condicionada de lugares asociados a interacción social en ratas Wistar macho adolescentes. Los resultados del presente estudio muestran que la crianza en aislamiento social aumentó la sensibilidad de ratas adolescentes a las propiedades de incentivo de la interacción social, evidenciado en el CPP social, en el incremento en las conductas de juego y en el aumento de cantidad de TH disponible en las células dopaminérgicas del VTA. También se encontró que la crianza en aislamiento social tiende a disminuir la cantidad de células oxitocinérgicas del PVN que puede estar relacionado con una disminución en el tiempo dedicado a las conductas de investigación social respecto a los animales en grupo.

### **La crianza en aislamiento social aumentó la sensibilidad de los animales a las propiedades de incentivo de la interacción social**

Los resultados del presente estudio muestran que los animales mantenidos en la condición de aislamiento fueron los únicos que mostraron CPP social. Si bien se encontró que todos los animales condicionados con interacción social presentaron un aumento en el tiempo en el lado no preferido de la caja durante la prueba, los análisis por contrastes mostraron que esta diferencia es significativa únicamente en el grupo alojado en aislamiento. Este mismo grupo mostró una disminución significativa del tiempo en el lado preferido durante la prueba y no evidenció un cambio del tiempo en el compartimiento central. Estos cambios en la distribución del tiempo indican que el grupo condicionado con interacción social y criado en aislamiento, invirtió su preferencia inicial, pasando más tiempo ahora en el compartimiento que fue asociado a la interacción social. Estos resultados son consistentes con otras investigaciones con animales aislados tanto adolescentes como adultos que han reportado condicionamiento de preferencia de lugar por un estímulo social (Calcagnetti & Schechter, 1992; Crowder & Hutto, 1992; Van den Berg, et al., 1999<sup>b</sup>; Douglas et al, 2004; Thiel et al., 2009; Bariselli et al, 2018).

Parte de la literatura al respecto ha discutido que este efecto puede deberse a que la interacción social tiene más valor de incentivo para los animales aislados que para los animales en grupo. El estudio de Bariselli et al, (2018) podría ser evidencia de ello, ya que demostró que los animales alojados en aislamiento durante la adolescencia muestran mayor resistencia a la extinción de la preferencia por un estímulo social. Los autores discuten que esta resistencia podría deberse a una mayor fuerza de la asociación entre las señales contextuales y la presencia del conespecífico, producto de la asignación de un mayor valor subjetivo a la interacción social. De igual forma Van den Berg et al, (1999<sup>b</sup>) demostraron que los animales alojados en aislamiento, muestran más conductas anticipatorias previas al contacto social, -conductas que son provocadas por estímulos que conducen y facilitan las conductas consumatorias-, respecto a los animales alojados en grupo. Los autores consideraron para su estudio la hiperactividad evidenciada luego de la exposición a un estímulo incentivo como un indicador de conducta anticipatoria y encontraron en su experimento número seis, que los animales que fueron alojados en aislamiento durante la adolescencia temprana y que fueron entrenados en la edad adulta, mostraron niveles elevados de hiperactividad tras la presentación del CS+ que se mantenían o incluso aumentaban durante las sesiones, mientras que en los animales en grupo tendía a disminuir.

Estudios previos han demostrado que cortos periodos de privación social pueden incrementar los comportamientos sociales típicos de la edad, como el juego social en adolescentes (Panksepp & Beatty, 1980; Takahashi & Lore, 1983; Varlinskaya et al., 1999; Panksepp & Lahvis, 2007). En el caso de la presente investigación, los adolescentes criados en aislamiento social pasaron más tiempo realizando conductas de juego que los animales en grupo en las dos sesiones de condicionamiento registradas. Estos hallazgos concuerdan con Douglas et al, (2004) y Yates et al., (2013) quienes sugieren que la privación de las interacciones sociales -de corto o de largo plazo- aumenta la motivación de los animales para tener contacto social, lo que se evidenciaría en un incremento de las conductas de juego y de la preferencia por lugares asociados al contacto social.

Es importante aclarar que aunque los animales alojados en grupo y condicionados con interacción social también mostraron una disminución significativa del tiempo en el lado

inicialmente preferido, esta reducción no se vio reflejada en un aumento estadísticamente significativo en el lugar inicialmente no preferido o en el centro respecto a la línea de base, por tanto no se considera evidencia de un condicionamiento. La ausencia de CPP en este grupo podría deberse a que si bien la interacción social tiene propiedades de incentivo naturalmente (Crowder & Hutto, 1989; Calcagnetti & Schechter, 1992; Krimberg et al, 2021), en el caso de animales sin privación de interacción social el valor de incentivo de la interacción podría verse disminuido y con ello la preferencia de lugar.

Este resultado no concuerda con otras investigaciones donde se ha encontrado que los animales alojados en grupo también muestran CPP social (ej. Douglas et al, 2004; Bariselli et al, 2018). Las diferencias podrían deberse a características del método como la edad, ya que es probable que la sensibilidad de los animales alojados en grupo varíe según la etapa de la adolescencia donde se encuentren. Douglas et al (2004) utilizó en su experimento animales adolescentes que iniciaron condicionamiento con 33 DP y fueron testados el DP 38 (adolescencia temprana e inicios de la adolescencia media), mientras que en la presente investigación los animales iniciaron el condicionamiento el DP 37 y fueron testados el DP 45 (final de la adolescencia media). Estas diferencias en la edad son importantes ya que hay reportes que indican que las conductas de juego alcanza su punto máximo entre los DP 30 y 35, desde donde empiezan a disminuir (Vanderschuren et al., 1997; Varlinskaya & Spear, 2002), lo cual podría indicar que durante la adolescencia temprana los animales muestran mayor sensibilidad a la propiedades de incentivo de la interacción social.

Adicionalmente, Douglas et al., (2004) encontraron que los animales adolescentes criados en grupo solo mostraron CPP cuando fueron expuestos a animales criados en su misma condición, mientras que los animales aislados presentaban CPP social independientemente de su edad y de la condición de crianza de la pareja, mostrando como el aislamiento aumenta la sensibilidad de los animales a las propiedades de incentivo de la interacción social, incluso en la adultez. Adicionalmente, Bariselli et al (2018) encontraron que los ratones macho mostraban CPP social únicamente cuando eran emparejados con un conespecífico menor que ellos, los autores utilizaron como parejas en las sesiones de condicionamiento a ratones de 3 a 4 semanas de vida, mientras que los animales

experimentales tenían entre 7-8 semanas. Interesantemente, estos autores encontraron que cuando se presentaban dos ratones de la misma edad, no se evidenciaba CPP social en los animales en grupo, similar a lo reportado en el presente estudio. Los autores discuten que esto podría deberse a la presencia de comportamientos antagonistas que son característicos de los ratones C57B/6 utilizados en el experimento que se hacían más evidentes cuando se encontraban animales de la misma edad.

Un resultado que llama la atención es el hecho de que los animales alojados en condición de aislamiento que no fueron expuestos a interacción social en las sesiones de condicionamiento mostraron una disminución significativa del tiempo en el compartimiento inicialmente preferido, acompañado de un aumento del tiempo en el compartimiento central durante la prueba. El aumento del tiempo en el compartimiento central, podría deberse a diferencias en la habituación y en la exploración consecuencia de la crianza en aislamiento. Algunas investigaciones han mostrado que la crianza en aislamiento aumenta la actividad locomotriz en espacios novedosos (Arakawa, 2018; Haj-Mirzaian et al., 2019) y si bien los animales habían sido expuestos al CPP completo durante los tres primeros días de la fase experimental, durante los últimos ocho días únicamente fueron expuestos a los compartimientos laterales, lo que pudo ocasionar un aumento especial en la actividad en el compartimiento central durante la prueba ya que este difería de los compartimientos laterales al tener piso y paredes lisas de color gris.

La disminución del tiempo en el lado inicialmente preferido durante la prueba respecto a la línea de base evidenciada en los animales aislados que no fueron expuestos a la interacción social de forma contextual podría deberse al aumento en la exploración en el compartimiento central durante la prueba. Sin embargo, la investigación de Bastle et al, (2016) que explora el efecto de la presentación de nicotina con interacción social en la preferencia condicionada de lugar, también encontró que las ratas adolescentes aisladas que no fueron expuestas a un estímulo social y que fueron tratadas con solución salina, mostraban una disminución el tiempo pasado en el compartimiento preferido durante la prueba respecto a la línea de base y aunque este instrumento constaba solo de dos compartimientos, se evidenció un resultado similar al reportado en la presente investigación, en el sentido de que

los animales que no recibieron condicionamiento también disminuyeron el tiempo en el lado inicialmente preferido. Sin embargo, este hallazgo no es discutido en dicha investigación, resulta necesario realizar mediciones de la actividad locomotriz y de la exploración del CPP completo tanto en las sesiones de habituación previas al condicionamiento como en sesiones adicionales posteriores al test, que permitan identificar y corroborar este resultado, además de explorar también el comportamiento de este grupo en particular en un CPP de solo dos compartimientos.

### **La crianza en aislamiento social alteró los patrones de comportamiento de la interacción social**

Nuestros resultados indican que los animales criados en aislamiento pasan más tiempo realizando conductas de juego y emiten menores conductas de investigación comparado con los animales criados en grupo. Como se mencionó previamente, el aumento en las conductas de juego evidenciado en los animales aislados se puede relacionar con el aumento en la sensibilidad a las propiedades de incentivo de la interacción social, lo que ocasiona un incremento en las conductas de juego con el conoespecífico durante las sesiones de condicionamiento. Sin embargo, estos cambios en los patrones comportamentales también se han asociado con disfunciones en la conducta social producto de la privación particular a la cual han sido expuestos durante su vida (Bell et al, 2010).

Nuestros resultados son consistentes con la literatura al respecto, ya que se evidenció un aumento significativo en las conductas de juego producto de un periodo de privación social (Panksepp y Beatty, 1980; Takahashi y Lore, 1983; Martin; & Caro, 1985; Hole, 1991; Varlinskaya et al., 1999; Bell et al, 2010). Este aumento de las conductas de juego se ha relacionado con alteraciones en la correcta coordinación y secuencia de movimientos implicados en las interacciones sociales (Heidbreder & Groenewegen, 2003), y estas alteraciones en la coordinación de movimientos se ha relacionado sobre todo con los cambios morfológicos de la corteza prefrontal producto del aislamiento durante la adolescencia.

Un estudio de Bell et al., (2010) demostró que algunas estructuras de la CPF que se encuentran relacionadas con la coordinación y con la regulación del comportamiento social,

variaban su morfología según la experiencia social a la que se expone el animal durante su desarrollo, así, las neuronas de la corteza orbito frontal muestran campos dendríticos más complejos según el número de compañeros de crianza y las neuronas de la CPFm cambian su morfología según los tipos de interacción social a los que fue expuesto el animal. En esta misma línea, Bell (2009) demostró que animales con lesiones en estas áreas anteriores muestran juegos torpes con tácticas defensivas ineficientes, similares a las reportadas en los animales criados en aislamiento. A partir de estos resultados el autor sugiere que el refinamiento de los comportamientos motores se logra a medida que el animal interactúa con sus compañeros y se da el proceso de poda neuronal típico en esta estructura durante la adolescencia media, que por falta de estimulación social no se da en los animales alojados en aislamiento.

En cuanto a las conductas de investigación, nuestros resultados muestran que los animales aislados dedicaban menos tiempo a conductas de identificación social que animales en grupo, lo que coincide con estudios en los que se encontró que el aislamiento genera una disminución significativa en la detección anogenital y en la exploración social (Van den Berg et al., 1999<sup>a</sup>; Van den Berg et al., 1999<sup>b</sup>; Hol et al., 1999; Pellis et al., 2006). Estos cambios en las conductas de investigación social, también se han atribuido a alteraciones en las diferentes sub regiones de la CPF, ya que se ha observado que la corteza orbito frontal juega un papel importante en la capacidad de distinguir a los compañeros, siendo así que animales con alteraciones en esta estructura no muestran comportamientos de investigación social adecuados (Jones, 2001). Al respecto, un estudio previo no publicado de nuestro grupo de investigación (Ballesteros, 2023) evidenció que los animales adolescentes criados en aislamiento muestran menor acumulación de  $\Delta$ fosB en la corteza prefrontal, y la expresión de este factor de transcripción se ha asociado con diferentes mecanismos de regulación dopaminérgica y glutamatérgica, que podrían estar afectando la expresión de los comportamientos de investigación social.

### **Relación entre los comportamientos de interacción social y el establecimiento de preferencia de lugar en los animales criados en aislamiento**

Teniendo en cuenta que los animales criados en aislamiento mostraron mayor preferencia condicionada por el lado asociado a un estímulo social y además presentaron un aumento significativo en el tiempo dedicado a las conductas de juego respecto a los animales en grupo, fue evaluada la relación entre estos dos marcadores conductuales. Inicialmente se esperaba encontrar una correlación positiva significativa, teniendo en cuenta investigaciones previas que han mostrado que el juego social tiene propiedades de incentivo (Calcagnetti & Schechter, 1992; Pellis & Pellis, 2017); sin embargo, nuestros resultados muestran que para los animales alojados en aislamiento el tiempo dedicado a las conductas de juego durante la última sesión de condicionamiento tiene una relación lineal moderada negativa con el delta del CPP (ver figura 9). Esto podría significar que los animales que mostraron mayor CPP social, es decir un cambio más grande en el tiempo en el compartimiento no preferido durante la prueba respecto a la línea de base, pasaron menor tiempo realizando conductas de juego en la última sesión de condicionamiento. Es importante mencionar que los resultados no mostraron significancia estadística, sin embargo es probable que la ausencia de significancia se deba a el número de muestra limitado, ya que se contaron con 8 animales por grupo, sin embargo el coeficiente de correlación reportado para los animales aislados muestra una fuerza de correlación moderada, mientras que en los animales en grupo se encontró una fuerza de correlación débil.

EL hallazgo de una correlación negativa, no concuerda con lo reportado por el único estudio que a la fecha incluye una correlación ente las conductas de interacción social y el CPP (ya citar el estudio). En este estudio se encontró que el tiempo de juego correlaciona positivamente con el indicador del CPP en los animales adolescentes, mientras que el tiempo de investigación social correlaciona positivamente con el CPP de los animales adultos, sugiriendo que el tiempo dedicado a tales comportamientos pudo contribuir a las propiedades de incentivo de la interacción social según la edad del animal (Douglas et al., 2004). Sin embargo, esta discrepancia en los hallazgos podrían deberse a la ya mencionada diferencia de edad de los animales experimentales usados entre los dos estudios.

El hallazgo de una correlación negativa entre estos indicadores resulta contraintuitiva, sin embargo, da cuenta de lo complejo que son los comportamientos sociales, ya que las propiedades de incentivo de la interacción social podrían estar siendo mediadas por múltiples factores independientes al tiempo neto de juego social en las sesiones de condicionamiento.

Pellis y McKenna, (1992) mostraron que, para que la conducta de juego sea reforzante, las ratas adolescentes deben evidenciar comportamientos coordinados y recíprocos siguiendo las reglas de cada especie para el inicio de juego y sus respuestas de defensa, y como se expuso previamente las ratas aisladas suelen mostrar patrones de juego alterados. Por otro lado, algunas investigaciones han mostrado que las características del juego varían según si el animal es dominante o sumiso. Calcagnetti y Schechter, (1992) categorizaron como animales dominantes a los sujetos experimentales que durante cinco minutos de interacción lograban someter más veces a sus compañeros. Estos autores mostraron que los sometimientos realizados por las ratas adolescentes dominantes duraban entre 2 a 3 veces más que los realizados por las ratas sumisas. Estas diferencias podrían implicar que el juego social tenga menos valor de incentivo para los animales sumisos que para los animales dominantes a pesar de durar el mismo tiempo para ambos, además, teniendo en cuenta que el aislamiento aumenta las conductas agresivas de los animales (Grotewold et al., 2014), es probable que esta correlación negativa refleje la presencia de mayores comportamientos dominantes y agresivos en los animales aislados. Si bien, nosotros reportamos el tiempo dedicado a las conductas de juego, es importante recordar que este corresponde al tiempo por cada pareja experimental, independientemente de quien inicio o quien logro quedar encima del otro animal. Por tanto es probable que dentro de los resultados obtenidos se encuentren algunos animales sumisos que fueron condicionados con animales dominantes para quienes a pesar de tener una cifra alta en cuanto al tiempo de juego no evidencien un CPP elevado.

Teniendo en cuenta esto, es necesario realizar mediciones precisas de las características importantes del juego que pueden estar determinando sus propiedades de incentivo, como las características individuales de dominancia, tiempos de sumisión, número de luchas ganadas y registros de inicio de juego.

Aunque también, existe la posibilidad de que definitivamente el juego no sea un indicador del valor reforzante de la interacción social y por tanto la capacidad asociativa de la interacción social en la prueba del CPP no este mediada por el acceso al juego social. Ya que si bien, algunas investigaciones indican que el juego social es necesario para que se evidencie un condicionamiento de preferencia de lugar, por ejemplo, Van den Berg et al., (1999b) quienes utilizando animales aislados realizaron un estudio de CPP con un estímulo social que no podía moverse al estar dentro de un restrictor de movimiento y encontraron que los animales aislados tanto adolescentes como adultos, solo mostraron condicionamiento cuando eran expuestos a animales con quienes podían interactuar, y Calcagnetti & Schechter, (1992) quienes demostraron que para ratas dominantes la posibilidad de jugar era lo que determinaba el condicionamiento de preferencia de lugar, siendo así que cuando eran condicionadas con un animal sedado con escopolamina -incapaz de responder a la solicitud de conductas de juego-, no se evidenciaba un cambio en la permanencia del lugar durante el test. Otro grupo de estudios han mostrado resultados diferentes, por ejemplo, Kummer et al., (2011) y Peartree et al., (2012) demostraron que solo la posibilidad del tacto permite el establecimiento de preferencia de lugar, siendo así que cuando se limitaba la interacción social a la posibilidad de tocar únicamente el hocico, las patas delanteras o la cola de un conespecífico por medio de una barras de acero, se seguía evidenciando condicionamiento de lugar aunque de menor magnitud, pero este desaparecía cuando los animales eran divididos por un cristal transparente que solo les permitía la interacción social por señales visuales, olfativas o auditivas.

Teniendo en cuenta lo anterior, es probable que el tiempo bruto de juego registrado para la pareja experimental no esté dando suficiente información sobre la relación del juego con el establecimiento de la preferencia de lugar, por tanto, es necesario realizar estudios adicionales donde además de incluir la medición de características de calidad del juego, se incluya la posibilidad de esconderse del compañero y se evalué este indicador de forma individual, lo que también permitirá aumentar el número de muestra.

### **La crianza en aislamiento social aumentó la cantidad de TH en las células del VTA**

Nuestros resultados sugieren que la crianza en aislamiento social aumentó la actividad dopaminérgica, lo que se evidencia en un aumento significativo de la TH disponible en las neuronas dopaminérgicas del VTA en los animales aislados en comparación con los animales criados en grupo. Este resultado concuerda con lo reportado por Karkhanis et al., (2019) quienes mediante técnicas de voltamperometría *in vivo* y Western blot demostraron que los animales aislados muestran mayor expresión de la proteína TH tras estimulaciones eléctricas en el VTA, respecto a los animales en grupo, sin embargo, estos autores midieron la expresión de TH en el NAc, mientras que en la presente investigación la medición fue hecha en el VTA. Estos autores también encontraron que los animales aislados muestran mayores incrementos en la liberación de dopamina en el NAc tras estimulaciones en el VTA con diferentes intensidades y frecuencias y que las reservas de dopamina fácilmente liberables se agotaban más rápido en los animales alojados en grupo en comparación con los animales en aislamiento. Estos autores sugieren que el aumento en la liberación de dopamina está estrechamente relacionado con el aumento en la cantidad de TH que genera una mayor disponibilidad de este neurotransmisor ante un estímulo. Este resultado va en la misma dirección de lo reportado por Yorgason et al., (2013) quienes también encontraron que la liberación de dopamina en NAc producida por la estimulación del VTA es mayor en animales aislados respecto a animales alojados en grupo.

Considerado que la exposición a un estímulo incentivo estimula la actividad de las neuronas dopaminérgicas del VTA y genera liberación de dopamina en el NAc (Gerfen et al., 1990; Beitner-Johnson., & Nestler, 1991) y que esa liberación de dopamina depende de la actividad de la enzima TH (Dunkley & Dickson, 2019), es posible sugerir que en el presente estudio en el que se evidenció condicionamiento de lugar únicamente en los animales alojados en aislamiento, el aumento en las propiedades de incentivo de la interacción social está mediado por el aumento en la cantidad de TH que podría facilitar el aumento en la dopamina liberada en el NAc.

De igual forma, otras investigaciones apuntan a que el aumento en la sensibilidad a las propiedades de incentivo de un estímulo en los animales aislados se relaciona con una

hiperactividad en el circuito mesocorticolímbico de recompensa cerebral (Jones et al., 1992; Brenes & Fornaguera, 2008; Whitaker et al., 2013; Bastle, 2016; Karkhanis et al., 2019) Por ejemplo, Whitaker et al., (2013) demostraron que la privación social durante la adolescencia temprana y media (DP 21-42) mejora el CPP inducido por anfetamina y etanol y genera mayor resistencia a la extinción, en comparación con la condición de crianza en grupo. En esta investigación no se realizó una medición directa de la actividad dopaminérgica, sino que evaluó por medio de estimulación *in vivo*, los cambios en los receptores NMDA que se encuentran altamente relacionados con la activación de las neuronas dopaminérgicas del VTA (Zweifel et al., 2009; Wang et al., 2011) y se encontró que el aislamiento social mejoró la potenciación a largo plazo de la transmisión glutamatérgica que esta medida por el receptor NMDA en el VTA, los autores discuten que este cambio plástico puede estar ocasionando el aumento en la vulnerabilidad a la adicción.

La TH ha sido usada en otros estudios como marcador para evaluar las diferencias en la sensibilidad a un estímulo, por ejemplo Mathews et al., (2019), evaluaron la cantidad de TH en el NAc frente a la administración de anfetamina y encontraron que tras la administración de este fármaco se aumentan exponencialmente los niveles de TH en el NAc. Además Verheij y Cools, (2008) encontraron que los animales que muestran menor sensibilidad a la novedad y a las propiedades de incentivo de la anfetamina también muestran una reducción en los niveles de TH en el NAc. Esta evidencia ha llevado a proponer que la TH es un buen indicador de la sensibilidad a un estímulo incentivo, incluso de un estímulo social. En este sentido, Song et al., (2016) encontraron que las interacciones sociales de por sí, aumentan la actividad de las neuronas dopaminérgicas del VTA y algunos estudios han mostrado que las neuronas dopaminérgicas del VTA aumentan su actividad en respuesta a recompensas inesperadas y ante señales que predicen la disponibilidad de una recompensa (Cohen et al., 2012).

Teniendo en cuenta lo anterior, se esperaría que los animales que fueron expuestos a interacción social en la última sesión de condicionamiento hora y media antes de la perfusión, presentaran mayores niveles de TH respecto a los animales que no fueron expuestos a interacción social en dicha sesión. Sin embargo, no se encontraron diferencias en la expresión

de TH entre los grupos sociales y los no sociales, ni interacción entre la exposición a interacción social y las condiciones de crianza. Estos resultados podrían deberse a la exposición al ambiente alternativo, ya que en el presente estudio todos los grupos recibieron cuatro exposiciones a interacción social y cuatro inyecciones de nicotina, aun que únicamente los grupos Ais/So y Gp/So fueron expuestos a interacción social de forma contextual, emparejándola con el lado inicialmente no preferido durante las sesiones de CS+, mientras que los grupos Ais/NoSoc y Gp/NoSoc eran expuestos a interacción social una hora y media después de las sesiones de CS- en un ambiente completamente diferente al CPP, donde todos los grupos recibían también una inyección de nicotina.

Se sugiere que el simple hecho de ser expuestos a un estímulo incentivo como lo es la interacción social o la nicotina, pudo haber aumentado la cantidad de TH en el VTA de todos los animales, siendo más prominente en los animales criados en aislamiento. Además, se ha demostrado que inyecciones sistémicas de nicotina en ratas adultas aumentan los niveles de TH en el VTA, incluso 24 horas después de la administración de la droga (Ferrari et al, 2002). Sin embargo, este aumento también evidenciaría la hiperactividad del circuito dopaminérgico en los animales aislados, ya que todos los animales fueron expuestos cuatro veces a este fármaco y los resultados indican un aumento de la TH únicamente en los animales aislados.

### **El aislamiento social disminuyó la cantidad de células positivas para oxitocina en el PVN**

Los resultados de la presente investigación muestran una reducción no significativa en el número de células oxitocinérgicas en el PVN en los animales criados en aislamiento. Este hallazgo es consistente con trabajos previos en los que se muestra una reducción en la actividad celular de las neuronas en esta área y en otras estructuras del circuito de recompensa cerebral como el NAc y el VTA (Krimberg et al., 2021). Por ejemplo, Tanaka et al., (2010) criaron ratas hembras y machos en aislamiento desde el DP 23 al DP 48 y realizaron una inmunohistoquímica para determinar el número de células positivas para oxitocina en el PVN y encontraron que únicamente las ratas hembras criadas en aislamiento social mostraban una

disminución en el número de células positivas para oxitocina en el PVN, pero específicamente en la zona ventral.

Por otro lado, Tanaka et al., (2019) observaron que ratas hembras alojadas en aislamiento desde el DP 23 hasta el DP 70 mostraban una disminución en la proporción de células fos-positivas en las neuronas oxitocinérgicas en el PVN tras la exposición a una rata hembra desconocida, sin embargo no se encontró el mismo efecto en los animales machos quienes no difirieron de los animales en grupo. Adicionalmente estos autores realizaron una prueba comportamental de aproximación social y encontraron que las hembras criadas en aislamiento pasaron menos tiempo en la zona de aproximación respecto al grupo criando en parejas, por lo que los autores sugieren que dicha disminución en la actividad de las células oxitocinérgicas se relaciona con una disminución en la motivación para el contacto y la investigación social, sin embargo es importante tener en cuenta que se utilizó para todos los casos como estímulo social una hembra sexualmente no receptiva, por tanto el estímulo social no era equiparable entre ambos sexos y tampoco es comparable con el resultado comportamental y fisiológico evidenciado en nuestro estudio.

Tanaka et al., (2010) discuten que la reducción en la actividad del circuito oxitocinérgico ocasionada por la crianza en aislamiento podría ser producto de la privación social a la que son expuestos los animales durante el periodo crítico del desarrollo, donde la ausencia de conductas sociales ocasiona interrupciones importantes en el neurodesarrollo alterando la actividad de otros neuromodulares que a la final afectan la actividad de la oxitocina cerebral en el PVN. Por ejemplo, los autores discuten que el aislamiento podría estar afectando la inervación noradrenérgica del tronco encefálico así como las entregas serotoninérgicas moduladas por el núcleo el rafe al PVN, alterando la síntesis y liberación de oxitocina en esta área. Y por su parte Tanaka et al., (2019) exponen que el aislamiento podría estar afectando también la correcta regulación y comunicación de las estructuras del eje HPA, que se encuentra muy relacionado con la regulación de la actividad de la oxitocina.

Adicionalmente, Krimberg et al., (2021) presentan mediante una revisión sistemática y un metaanálisis los resultados de doce trabajos en donde se explora el efecto del aislamiento en la oxitocina cerebral y sus efectos comportamentales en ratas y ratones, los autores

reportan que el aislamiento social está asociado consistentemente con una disminución de los niveles de los OTR en varias estructuras del circuito de recompensa cerebral, incluyendo el VTA y el NAc, y estas reducciones en los OTR se ha asociado con alteraciones comportamentales como aumentos en la agresión, presencia de comportamientos similares a la ansiedad, hiperactividad y una reducción en las interacciones sociales y la memoria social. Sin embargo, no encontraron resultados consistentes en cuanto a posibles cambios en los niveles de liberación de oxitocina producto del aislamiento, por tanto es necesario realizar futuros estudios que evalúen este marcador, ya que en la presente investigación se incluye únicamente el conteo de células positivas para oxitocina.

Por otro lado, teniendo en cuenta que la oxitocina está mediando la actividad dopaminérgica del VTA y del NAc, y que los animales aislados parecen tener mayor liberación de dopamina ante estímulos incentivos, se podría esperar que los animales aislados muestren un aumento en este neuropéptido oxitocina que explique el aumento en la sensibilidad a las propiedades de incentivo de la interacción social. Sin embargo, estos hallazgos sugieren que el efecto del aislamiento social es consistente con una reducción de la actividad de las células oxitocinérgicas del PVN, que parece no afectar la capacidad asociativa de la interacción social, es posible que el aumento en la sensibilidad a las propiedades de incentivo de la interacción social se deba sobre todo a el aumento en la disponibilidad de TH en el VTA, que independientemente de la intensidad de la estimulación generada por las células oxitocinérgicas del PVN, muestran mayor liberación de dopamina. Además, al utilizar como marcador el conteo de las células positivas para oxitocina en el PVN, no se puede evidenciar su efecto estimulante en las estructuras dopaminérgicas, ya que no se está evaluando la cantidad de liberación o la densidad de los receptores en las neuronas diana.

Por otro lado, lo que sí es claro, es que los cambios en la actividad de la oxitocina cerebral afectan la emisión de los comportamientos sociales, aumentando las conductas de agresividad, ansiedad, hiperactividad y disminuyendo la memoria social (Krimberg et al., 2021). Al respecto, Litvin & Murakami, (2011) demostraron que la actividad de las neuronas oxitocinérgicas del PVN aumentaba durante las interacciones sociales y mostraba menor

actividad en animales con bajos niveles de interacción social, de igual forma, se ha observado que la administración de un agonista de oxitocina facilita el reconocimiento social, mientras que la administración de un antagonista interfiere con este proceso (Bielsky & Young, 2004). Teniendo en cuenta esto, se sugiere que la disminución en las conductas de investigación observado en los animales aislados, se podría relacionar con la reducción en el número de células oxitocinérgicas del PVN, que estaría afectando concretamente los comportamientos de investigación social y no de juego social.

### **Consideraciones metodológicas y perspectivas futuras**

Si bien nuestros resultados sugieren que la crianza en aislamiento social puede incrementar la sensibilidad de los animales a las propiedades de incentivo de la interacción social, aumentando la actividad del circuito de recompensa cerebral dopaminérgico mesocorticolímbico, aún no es claro cuál podría ser la implicación de la reducción en el número de células positivas para oxitocina en el PVN, ya que las proyecciones de dichas células hacia el NAc y el VTA, media el tono dopaminérgico implicado en el procesamiento de los estímulos social (Young & Wang, 2004; Shamay-Tsoory et al., 2016; Xiao et al., 2017; Hung et al., 2017). Por tanto, resulta necesario realizar investigaciones adicionales en las que se evalúe el efecto del aislamiento no solo en el número de células positivas para oxitocina en el PVN, si no también sobre la densidad de las proyecciones y de los receptores para oxitocina, así como en la liberación de oxitocina en las principales estructuras del circuito de recompensa cerebral, ya que el número de células por sí mismo no brinda información suficiente sobre la interacción de estos dos sistemas.

Se sugiere el uso de otras técnicas de análisis histológico y fisiológico que permitan identificar cambios en la relación de estos neurotransmisores. Igualmente, sería importante determinar la actividad de la TH por medio de un marcador más específico como la TH-fosforilada que permitiría rastrear directamente la síntesis de dopamina (Liang et al., 2012) o la inclusión de marcadores tanto para TH como para oxitocina en estructuras como el hipocampo, la BLA, la CPFm y el núcleo supraóptico- esto podría resultar beneficioso ya

que se ha demostrado que estas estructuras participan en el procesamiento de la interacción social (Tribollet et al. 1989; Dölen et al., 2013)

Respecto a los indicadores comportamentales, serían interesantes estudios futuros en los que se incluya un análisis más detallado de los comportamientos sociales, incluyendo el registro de las conductas de evitación social, las frecuencias de iniciación de juego por cada animal, además de evaluar características individuales de dominancia y sumisión que permitan entender mejor la relación entre las conductas de juego con sus propiedades de incentivo en una prueba de condicionamiento de lugar. Como se mencionó previamente, el uso del tiempo bruto no es suficiente para abordar la complejidad de las interacciones sociales. De igual forma, es importante mencionar que dado al diseño experimental del presente trabajo, el análisis estadístico de la correlación entre las conductas de juego y el delta del CPP, se realizó con solo ocho animales en cada condición de crianza, por lo que es necesario realizar futuras investigaciones con una muestra más representativa que permita contrastar los resultados obtenidos.

De igual forma, sería de provecho realizar estudios comportamentales con mediciones fisiológicas adicionales que exploren el efecto del aislamiento social durante la adolescencia en las propiedades de incentivo de la interacción social con otros paradigmas, por ejemplo utilizando el paradigma de conducta prosocial de liberación (Parra-Cruz et al., 2023; Ben-Ami Bartal., 2014) o pruebas de elección prosocial (Hernandez- Lallement et al., 2015; Márquez et al., 2015). La exploración de esta variable con diversos paradigmas podrían aportar a la construcción de un conocimiento sólido respecto a el efecto del aislamiento en las propiedades de incentivo de interacción social. De igual forma, realizar la evaluación de los patrones de las conductas sociales en diferentes momento del ciclo vital y en diferentes contexto sociales podrían aportar información valiosa sobre como la crianza en privación social está alterando el adecuado desarrollo de conductas sociales frente a contextos específicos.

Adicionalmente, la inclusión de análisis correlaciones entre medidas fisiológicas y comportamentales podría enriquecer y permitir corroborar hipótesis de forma más precisa, por ejemplo, se sugiere realizar una investigación donde se evalúen los niveles de TH luego

de la prueba y se realice un análisis de correlación con el indicador de CPP. De igual forma, realizar análisis de correlación entre los patrones de interacción social y el número de células oxitocinérgicas del PVN, podrían demostrar si efectivamente la disminución de las conductas de juego se debe a la disminución en el número de células oxitocinérgicas. Ya que dichos análisis no fueron posibles en la presente investigación debido a el número limitado de animales de los cuales se obtuvo una muestra fisiológica.

Es importante recordar que el presente estudio se desarrolló en el marco del proyecto titulado “Evaluación conductual y neurobiológica del estrés social temprano como modulador de la interacción entre nicotina y refuerzo social en ratas adolescentes” razón por la cual, se presentaron algunas limitaciones metodológicas como la exposición a nicotina en el ambiente alternativo y el número limitado de sujetos en los análisis fisiológicos. Sin embargo, los resultados son claros en indicar que el aislamiento social está alterando el procesamiento de la interacción social. Estos hallazgos cobran importancia ya que son consistentes con lo reportado en estudios con humanos sobre las consecuencias del aislamiento social en las conductas sociales, por ejemplo Cohen et al., (2012) y Benítez et al., (2016) encontraron que el aislamiento social durante la adolescencia tiende a causar problemas para formar vínculos sociales estables, y el presente estudio deja en evidencia como el aislamiento social durante la adolescencia está afectando de forma diferencial los patrones de interacción social de juego e investigación, mostrando una falencia en la emisión de conductas sociales adecuadas al contexto como la investigación previo a el juego.

**Referencias**

- Advani, T., Hensler, J. G., & Koek, W. (2007). Effect of early rearing conditions on alcohol drinking and 5-HT1A receptor function in C57BL/6J mice. *Neuropsychopharmacology*, 10(5), 595–607. doi:10.1017/S146114570600740.
- Albertin, S. V., Mulder, A. B., Tabuchi, E., Zugaro, M. B., & Wiener, S. I. (2000). Lesions of the medial shell of the nucleus accumbens impair rats in finding larger rewards, but spare reward-seeking behavior. *Behavioral Brain Research*, 117(1-2), 173-183. doi:10.1016/s0166-4328(00)00308-2.
- Anderson, R. I., & Spear, L. P. (2011). AutoShaping in adolescence enhances sign-tracking behavior in adulthood: Impact on ethanol consumption. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 98(2), 250-260. doi:10.1016/j.pbb.2011.01.004.
- Angermeier, W. F., Schaul, L. T., & James, W. T. (1959). Social conditioning in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 52(3), 370–372. doi:10.1037/h0046677.
- Arakawa, H. (2018). Ethological approach to social isolation effects in behavioral studies of laboratory rodents. *Behavioral Brain Research*, 341, 98–108. doi:10.1016/j.bbr.2017.12.022.
- Arruda-Carvalho, M., Wu, W. C., Cummings, K. A., & Clem, R. L. (2017). Optogenetic examination of prefrontal-amygdala synaptic development. *The Journal of Neuroscience*, 37(11), 2976-2985. doi:10.1523/JNEUROSCI.1910-16.2017.
- Badanich, K. A., Adler, K. J., & Kirstein, C. L. (2006). Adolescents differ from adults in cocaine conditioned place preference and cocaine-induced dopamine in the nucleus accumbens septi. *The European Journal of Pharmacology*, 550, 95–106. doi:10.1016/j.ejphar.2006.08.034.

- Baldessarini, R. J., & Tarazi, F. I. (2000). Comparative postnatal development of dopamine D(1), D(2), and D(4) receptors in rat forebrain. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 18, 29-37. doi:10.1016/s0736-5748(99)00108-2.
- Ballesteros Acosta, H. N. (2023). Efectos del aislamiento social sobre la inducción de procesos de plasticidad y el aprendizaje de estímulos contextuales asociados a la nicotina. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Humanas, Departamento de Psicología. Bogotá D.C., Colombia.
- Bariselli, S., Contestabile, A., Tzanoulinou, S., Musardo, S., & Bellone, C. (2018). SHANK3 downregulation in the ventral tegmental area accelerates the extinction of contextual associations induced by juvenile non-familiar conspecific interaction. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11, 360. doi:10.3389/fnmol.2018.00360.
- Bannon, M. J., O'Leary, O. F., O'Brien-Simpson, N. M., & O'Connor, J. J. (2019). Emerging roles of the brain's dopamine system in resilience to stress and addiction. *Neuroscience*, 408, 189-206. doi:10.1016/j.neuroscience.2019.03.03.
- Bastle, R. M., Peartree, N. A., Goenaga, J., Hatch, K. N., Henricks, A., Scott, S., Hood, L. E., & Neisewander, J. L. (2016). Immediate early gene expression reveals interactions between social and nicotine rewards on brain activity in adolescent male rats. *Behavioral Brain Research*, 313, 244-254. doi:10.1016/j.bbr.2016.07.024.
- Beitner-Johnson, D., & Nestler, E. J. (1991). Morphine and Cocaine Exert Common Chronic Actions on Tyrosine Hydroxylase in Dopaminergic Brain Reward Regions. *Journal of Neurochemistry*, 57(3), 344-347. doi:10.1111/j.1471-4159.1991.tb02133.x
- Bell, H. C., McCaffrey, D. R., Forgie, M. L., Kolb, B., & Pellis, S. M. (2009). The role of the medial prefrontal cortex in the play fighting of rats. *Behavioral Neuroscience*, 123(6), 1158-1168. doi:10.1037/a0017617.

- Bell, H. C., Pellis, S. M., & Kolb, B. (2010). Juvenile peer play experience and the development of the orbitofrontal and medial prefrontal cortices. *Behavioral Brain Research*, 207(1), 7-13. doi:10.1016/j.bbr.2009.09.029
- Belluzzi, J. D., Lee, A. G., Oliff, H. S., & Leslie, F. M. (2004). Age-dependent effects of nicotine on locomotor activity and conditioned place preference in rats. *Psychopharmacology*, 174(3), 389–395. doi:10.1007/s00213-003-1768-3
- Ben-Ami Bartal, I., Rodgers, D. A., Bernardez Sarria, M. S., Decety, J. & Mason, P. (2014). Pro-social behavior in rats is modulated by social experience. *eLife*, 3, 1-16. doi: 01385.10.7554/eLife.01385.
- Benítez, L., Cortés, E., & Hernández, C. (2016). El aislamiento social como consecuencia del uso excesivo de internet y móviles en adolescentes. *PsicoEducativa: Reflexiones y Propuestas*, 2(4), 24-30. Recuperado de <https://psicoeducativa.iztacala.unam.mx/revista/index.php/psicoedu/article/view/26>.
- Bielsky, I. F. & Young, L. J. (2004). Oxytocin, vasopressin, and social recognition in mammals. *Peptides*, 25 (9), 1565-1574.
- Blakemore, S. J. (2008). The social brain in adolescence. *Nature Reviews Neuroscience*, 9, 267-277. doi:10.1038/nrn2353
- Blumstein, D. T., Chung, L. K., & Smith, J. E. (2013). Early play may predict later dominance relationships in yellow-bellied marmots (*Marmota flaviventris*). *Proceedings of the Royal Society B*, 280: 20130485. doi:10.1098/rspb.2013.0485.
- Borrás, T. (2014). Adolescencia: definición, vulnerabilidad y oportunidad. *Correo Científico Médico*, 18(1), 5-7. Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S156043812014000100002&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S156043812014000100002&lng=es&tlng=es).

- Bredewold, R., Smith, C. J., Dumais, K. M., & Veenema, A. H. (2014). Sex-specific modulation of juvenile social play behavior by vasopressin and oxytocin depends on social context. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 216. doi:10.3389/fnbeh.2014.00216
- Brenes, J. C., & Fornaguera, J. (2008). Effects of environmental enrichment and social isolation on sucrose consumption and preference: Associations with depressive-like behavior and ventral striatum dopamine. *Neuroscience Letters*, 436(2), 278-282. doi:10.1016/j.neulet.2008.03.045
- Brenhouse, H. C., Sonntag, K. C., & Andersen, S. L. (2008). Transient D1 dopamine receptor expression on prefrontal cortex projection neurons: Relationship to enhanced motivational salience of drug cues in adolescence. *Journal of Neuroscience*, 28, 2375–2382. doi:10.1523/JNEUROSCI.4042-03.2004
- Buffington, S. A., Di Prisco, G. V., Auchtung, T. A., Ajami, N. J., Petrosino, J. F., & Costa-Mattioli, M. (2016). Microbial Reconstitution Reverses Maternal Diet-Induced Social and Synaptic Deficits in Offspring. *Cell*, 165(7), 1762-1775. doi:10.1016/j.cell.2016.06.001
- Casey, B. J., Getz, S., & Galvan, A. (2008). The adolescent brain. *Developmental Review*, 28(1), 62-77. doi:10.1016/j.dr.2007.08.003
- Calcagnetti, D. J., & Schechter, M. D. (1992). Place conditioning reveals the rewarding aspect of social interaction in juvenile rats. *Physiology & Behavior*, 51(4), 667-672. doi:10.1016/0031-9384(92)90101-7
- Chuhma, N., Zhang, H., Masson, J., Zhuang, X., Sulzer, D., Hen, R., & Rayport, S. (2004). Dopamine neurons mediate a fast excitatory signal via their glutamatergic synapses. *Journal of Neuroscience*, 24, 972–981. doi:10.1523/JNEUROSCI.4042-03.2004

- Cohen, I. S., Caballero, S. V., Mejail, S., & Hormigo, K. (2012). Habilidades sociales, aislamiento y comportamiento antisocial en adolescentes en contextos de pobreza. *Acta Colombiana de Psicología*, 15(1), 11-20. Recuperado de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S012391552012000100002&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012391552012000100002&lng=en&tlng=es).
- Comisión Económica para América Latina y el Caribe [CEPAL] (2022). Los impactos sociodemográficos de la pandemia de COVID-19 en América Latina y el Caribe. [https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/47922/S2200159\\_es](https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/47922/S2200159_es).
- Cortés-Patiño, D. M., Ballesteros-Acosta, H., Martin-Neira, V., Contreras, D. R., & Lamprea, M. R. (2023<sup>a</sup>). Post-weaning social isolation increases the incentive value of nicotine-related contexts and decreases the accumulation of  $\Delta$ FosB in nucleus accumbens in adolescent rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 223, 173529. doi:10.1016/j.pbb.2023.173529.
- Cortés-Patiño, D.M., Martin, V.N., Ballesteros-Acosta, H., Bustos-Rangel, A., & Lamprea, M.R. (2023<sup>b</sup>). Interaction of nicotine and social reward in group-reared male adolescent rats. *Behavioural Brain Research*, 447, 114432. doi:10.1016/j.bbr.2023.114432
- Crone, E. A. (2009). Executive functions in adolescence: Inferences from brain and behavior. *Developmental Science*, 12(6), 825-830. doi:10.1111/j.1467-7687.2009.00918.x.
- Crowder, W. F., & Hutto, C. W. (1992). Operant place conditioning measures examined using two nondrug reinforcers. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 41, 817-824. doi:10.1016/0091-3057(92)90233-6.
- Dahl, R. E. (2004). Adolescent brain development: A period of vulnerabilities and opportunities. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1021(1), 1-22. doi:10.1196/annals.1308.001.

- Del Pino, M. A., Bustamante, H. A., Ojeda, S. H., Fernandez, D. A., Romano, C. C., & Romano, C. S. (2014). Vulnerabilidad Adolescente: Factores que favorecen la resiliencia en los jóvenes de la localidad. *Informes científicos técnicos-UNPA*, 3(3), 62-80. doi:10.22305/ict-unpa.v3i3.38.
- Dölen, G., Darvishzadeh, A., Huang, K. W., & Malenka, R. C. (2013). Social reward requires coordinated activity of nucleus accumbens oxytocin and serotonin. *Nature*, 501(7466), 179-184. doi: 10.1038/nature12518.
- Douglas, L. A., Varlinskaya, E. I., & Spear, L. P. (2004). Rewarding properties of social interactions in adolescent and adult male and female rats: Impact of social versus isolate housing of subjects and partners. *Developmental Psychobiology*, 45(3), 153–162. doi:10.1002/dev.20025.
- Drzewiecki, C. M., Willing, J., & Juraska, J. M. (2016). Synaptic number changes in the medial prefrontal cortex across adolescence in male and female rats: a role for pubertal onset. *Synapse*, 70(9), 361-368. doi:10.1002/syn.21919.
- Dunkley, P. R., & Dickson, P. W. (2019). Tyrosine hydroxylase phosphorylation in vivo. *Journal of Neurochemistry*, 149, 706-728. doi:10.1111/jnc.14675.
- El Rawas, R., Klement, S., Kummer, K. K., Fritz, M., Dechant, G., Saria, A., Zernig, G. (2012). Brain regions associated with the acquisition of conditioned place preference for cocaine vs. social interaction. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 6, 63. doi:10.3389/fnbeh.2012.00063.
- Evans, M. J., Duvel, A., Funk, M. L., Lehman, B., Sparrow, J., Watson, N. T., Neuringer, A. (1994). Social reinforcement of operant behavior in rats: A methodological note. *Journal of Experimental Analysis of Behavior*, 62(1), 149–156. doi:10.1901/jeab.1994.62-149.

- Frantz, K. J., O'Dell, L. E., & Parsons, L. H. (2006). Behavioral and neurochemical responses to cocaine in periadolescent and adult rats. *Neuropsychopharmacology*, 32, 625–637. doi: 10.1038/sj.npp.1301130.
- Felix-Ortiz, A. C., Burgos-Robles, A., Bhagat, N. D., Leppla, C. A., & Tye, K. M. (2016). Bidirectional modulation of anxiety-related and social behaviors by amygdala projections to the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 321, 197–209. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.08.055.
- Ferguson, J. N., Young, L. J., & Insel, T. R. (2002). The neuroendocrine basis of social recognition. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 23(2), 200–224. doi: 10.1006/frne.2002.0229.
- Ferrari, R., Le Novère, N., Picciotto, M. R., Changeux, J. P., & Zoli, M. (2002). Acute and long-term changes in the mesolimbic dopamine pathway after systemic or local single nicotine injections. *European Journal of Neuroscience*, 15(11), 1810–1818. <https://doi.org/10.1046/J.1460-9568.2001.02009.X>.
- Fritz, M., El Rawas, R., Salti, A., Klement, S., Bardo, M. T., Kemmler, G., Dechant, G., Saria, A., & Zernig, G. (2011). Reversal of cocaine-conditioned place preference and mesocorticolimbic Zif268 expression by social interaction in rats. *Addiction Biology*, 16(2), 273–284. doi: 10.1111/j.1369-1600.2010.00285.x
- Fuxjager, M. J., Forbes-Lorman, R. M., Coss, D. J., Auger, C. J., Auger, A. P., & Marler, C. A. (2010). Winning territorial disputes selectively enhances androgen sensitivity in neural pathways related to motivation and social aggression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 12393–12398. doi: 10.1073/pnas.1001394107
- Geisler, S., & Zahm, D. S. (2005). Afferents of the ventral tegmental area in the rat: Anatomical substratum for integrative functions. *Journal of Comparative Neurology*, 490, 270–294. doi:10.1002/cne.20668

- Gerfen, C. R., Engber, T. M., Mahan, L. C., Susel, Z., Chase, T. N., Monsma Jr, F. J., & Sibley, D. R. (1990). D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science*, 250(4986), 1429-1432. doi:10.1126/science.2147780.
- Gowrishankar, R., & Clark, J. J. (2020). Selective manipulation of dopaminergic neurotransmission: A novel approach to understanding dopamine's role in the brain. *Pharmacological Reviews*, 72(4), 991-1028. doi:10.1124/pharmrev.119.000898.
- Grinevich, V., Desarménien, M. G., Chini, B., Tauber, M., & Muscatelli, F. (2015). Ontogenesis of oxytocin pathways in the mammalian brain: Late maturation and psychosocial disorders. *Frontiers in Neuroanatomy*, 8, 164. doi:10.3389/fnana.2014.00164.
- Grinevich, V., Knobloch-Bollmann, H. S., Eliava, M., Busnelli, M., & Chini, B. (2016). Assembling the puzzle: Pathways of oxytocin signaling in the brain. *Biological Psychiatry*, 79, 155–164. doi:10.1016/j.biopsych.2015.04.013.
- Grotewold, S. K., Wall, V. L., Goodell, D. J., Hayter, C., & Bland, S. T. (2014). Effects of cocaine combined with a social cue on conditioned place preference and nucleus accumbens monoamines after isolation rearing in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 231(15), 3041-3053. doi:10.1007/s00213-014-3470-0.
- Gourley, S. L., Olevska, A., Warren, M. S., Taylor, J. R., & Koleske, A. J. (2012). Arg kinase regulates prefrontal dendritic spine refinement and cocaine-induced plasticity. *Journal of Neuroscience*, 32, 2314–2323. doi:10.1523/JNEUROSCI.2730-11.2012.
- Gunaydin, L. A., Grosenick, L., Finkelstein, J. C., Kauvar, I. V., Fenno, L. E., Adhikari, A., Lammel, S., Mirzabekov, J. J., Airan, R. D., Zalocusky, K. A., Tye, K. M., Anikeeva,

- P., Malenka, R. C., & Deisseroth, K. (2014). Natural neural projection dynamics underlying social behavior. *Cell*, 157(7), 1535-1551. doi:10.1016/j.cell.2014.05.017.
- Haj-Mirzaian, A., Nikbakhsh, R., Ramezanzadeh, K., Rezaee, M., Amini-Khoei, H., Haj-Mirzaian, A., Gheshmati, M., Afshari, K., Haddadi, N.-S., & Dehpour, A. R. (2019). Involvement of opioid system in behavioral despair induced by social isolation stress in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 938–944. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.144>
- Hamburg, D. A., & Takanishi, R. (1989). Preparing for life: The critical transition of adolescence. *American Psychologist*, 44 (5), 825–827. doi:10.1037/0003066X.44.5.825.
- Harvey, B. H., Regenass, W., Dreyer, W., & Möller, M. (2019). Social isolation rearing-induced anxiety and response to agomelatine in male and female rats: Role of corticosterone, oxytocin, and vasopressin. *Journal of Psychopharmacology*, 33(5), 640-646. doi:10.1177/0269881119826783.
- Heidbreder, C. A., & Groenewegen, H. J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27(6), 555-579. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.09.003>
- Hernandez-Lallement, J., van Wingerden, M., Marx, C., Srejjic, M., & Kalenscher, T. (2015). Rats prefer mutual rewards in a prosocial choice task. *Frontiers in Neuroscience*, 8, 1-9. doi: 10.3389/fnins.2014.00443.
- Hol, T., Van den Berg, C. L., Van Ree, J. M., & Spruijt, B. M. (1999). Isolation during the play period in infancy decreases adult social interactions in rats. *Behavioural Brain Research*, 100, 91-97. doi: 10.1016/s0166-4328(98)00116-8

- Hole, G. (1991). The effects of social deprivation on levels of social play in the laboratory rat *Rattus norvegicus*. *Behavioural Processes*, 25, 41-53. doi:10.1016/0376-6357(91)90044-Z
- Hung, L. W., Neuner, S., Polepalli, J. S., Beier, K. T., Wright, M., Walsh, J. J., Lewis, E.M., Luo, L., Deisseroth, K., Dölen, G., Malenka, R.C. (2017). Gating of social reward by oxytocin in the ventral tegmental area. *Science* 357, 1406–1411. doi: 10.1126/science.aan4994.
- IBM Corp. (2021). IBM SPSS Statistics (Version del software) [Software]. Recuperado de [https://www.ibm.com/products/spss-statistics]
- Ikemoto, S., & Wise, R. A. (2004). Mapping of chemical trigger zones for reward. *Neuropharmacology*, 47, 190-201. doi: 10.1016/j.neuropharm.2004.07.012
- Ikemoto, S. (2007). Dopamine reward circuitry: Two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. *Brain Research Reviews*, 56 (1), 27-78. DOI: 10.1016/j.brainresrev.2007.05.004.
- JASP. (2023). Descarga JASP. JASP. <https://jasp-stats.org/download/>
- Jones, G. H., Hernandez, T. D., Kendall, D. A., Marsden, C. A., and Robbins, T. W. (1992) Dopaminergic and serotonergic function following isolation rearing in rats: study of behavioural responses and postmortem and in vivo neurochemistry. *Pharmacol., Biochem. Behav.* 43 (1), 17–35.
- Jones, G. H., Marsden, C., & Robbins, T. W. (2001). Behavioural rigidity and rule-learning deficits following isolation-rearing in the rat: neurochemical correlates. *Behavioural Brain Research*, 123(2), 35-50. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00197-1)
- Jurek, B., & Neumann, I. D. (2018). The oxytocin receptor: From intracellular signaling to behavior. *Physiological Reviews*, 98, 1805-1908. doi:10.1152/physrev.00031.2017.

- Karkhanis, A. N., Leach, A. C., Yorgason, J. T., Uneri, A., Barth, S., Niere, F., Alexander, N. J., Weiner, J. L., McCool, B. A., Raab-Graham, K. F., Ferris, M. J., & Jones, S. R. (2019). Chronic social isolation stress during peri-adolescence alters presynaptic dopamine terminal dynamics via augmentation in accumbal dopamine availability. *ACS Chemical Neuroscience*, 10(4), 2033-2044. doi:10.1021/acschemneuro.8b00360.
- Karkhanis, A. N., Rose, J. H., Weiner, J. L., & Jones, S. R. (2016). Early-life social isolation stress increases kappa opioid receptor responsiveness and downregulates the dopamine system. *Neuropsychopharmacology*, 41, 2263-2274. doi: 10.1038/npp.2016.21
- Kawano, M., Kawasaki, A., Sakata-Haga, H., Fukui, Y., Kawano, H., Nogami, H., & Hisano, S. (2006). Subpopulations of midbrain and hypothalamic dopamine neurons express vesicular glutamate transporter 2 in the rat brain. *Journal of Comparative Neurology*, 498, 581–592. doi: 10.1002/cne.21054
- Keebaugh, A. C., Barrett, C. E., Laprairie, J. L., Jenkins, J. J., & Young, L. J. (2015). RNAi knockdown of oxytocin receptor in the nucleus accumbens inhibits social attachment and parental care in monogamous female prairie voles. *Social Neuroscience*, 10, 561-570. doi:10.1080/17470919.2015.1040893.
- Kelley, A. E., & Berridge, K. C. (2002). The neuroscience of natural rewards: Relevance to addictive drugs. *Journal of Neuroscience*, 22(9), 3306-3311. doi:10.1523/JNEUROSCI.22-09-03306.2002.
- Kessler, R. C., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Merikangas, K. R., & Walters, E. E. (2005). Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Archives of General Psychiatry*, 62, 593–602. doi:10.1001/archpsyc.62.6.593.

- Koss, W. A., Belden, C. E., Hristov, A. D., & Juraska, J. M. (2014). Dendritic remodeling in the adolescent medial prefrontal cortex and the basolateral amygdala of male and female rats. *Synapse*, 68(2), 61-72. doi:10.1002/syn.21726.
- Koss, W. A., Lloyd, M. M., Sadowski, R. N., Wise, L. M., & Juraska, J. M. (2015). Gonadectomy before puberty increases the number of neurons and glia in the medial prefrontal cortex of female, but not male, rats. *Developmental Psychobiology*, 57(3), 305-312. doi:10.1002/dev.21267.
- Krimberg, J. S., Lumertz, F. S., Orso, R., Viola, T. W., & de Almeida, R. M. M. (2022). Impact of social isolation on the oxytocinergic system: A systematic review and meta-analysis of rodent data. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 134, 104549. doi:10.1016/j.neubiorev.2022.104549.
- Kummer, K., Klement, S., Eggart, V., Mayr, M. J., Saria, A., & Zernig, G. (2011). Conditioned place preference for social interaction in rats: Contribution of sensory components. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 5, 80. doi:10.3389/fnbeh.2011.00080.
- Ladd, G. W., Ettekal, I., Kochenderfer-Ladd, B., Rudolph, K. D., & Andrews, R. K. (2014). Relations among chronic peer group rejection, maladaptive behavioral dispositions, and early adolescents' peer perceptions. *Child Development*, 85, 971-988. doi:10.1111/cdev.12165.
- Lahvis, G. P., Panksepp, J. B., Kennedy, B. C., Wilson, C. R., & Merriman, D. K. (2015). Social conditioned place preference in the captive ground squirrel (*Ictidomys tridecemlineatus*): Social reward as a natural phenotype. *Journal of Comparative Psychology*, 129, 291-303. doi:10.1037/a0039435.
- Lammel, S., Ion, D. I., Roeper, J., & Malenka, R. C. (2011). Projection-specific modulation of dopamine neuron synapses by aversive and rewarding stimuli. *Neuron*, 70, 855-862. doi:10.1016/j.neuron.2011.03.025.

- Lammel, S., Lim, B. K., Ran, C., Huang, K. W., Betley, M. J., Tye, K. M., Deisseroth, K., & Malenka, R. C. (2012). Input-specific control of reward and aversion in the ventral tegmental area. *Nature*, 491, 212-217. doi:10.1038/nature11527.
- Lambe, E. K., Krimer, L. S., & Goldman-Rakic, P. S. (2000). Differential postnatal development of catecholamine and serotonin inputs to identified neurons in prefrontal cortex of rhesus monkey. *Journal of Neuroscience*, 20, 8780-8787. doi:10.1523/JNEUROSCI.20-23-08780.2000.
- Larson, R. W., Richards, M. H., Moneta, G., Holmbeck, G., & Duckett, E. (1996). Changes in adolescents' daily interactions with their families from ages 10 to 18: Disengagement and transformation. *Developmental Psychology*, 32, 744-754. doi:10.1037/00121649.32.4.744.
- Ley 1090 de 2006. Ley por la cual se reglamenta el ejercicio de la profesión de psicología. Diario Oficial No. 46.213, 6 de septiembre de 2006.
- Ley 84 de 1989. Ley por la cual se adopta el estatuto nacional de protección de los animales. Diario Oficial No. 38.933, 27 de enero de 1989.
- Liang, S. S., Ma, Y. J., Li, X. J., Ping, L., Hu, L., & Cui, C. L. (2012). Dynamic changes of tyrosine hydroxylase and dopamine concentrations in the ventral tegmental area-nucleus accumbens projection during the expression of morphine-induced conditioned place preference in rats. *Neurochemical Research*, 37(7), 1482–1489. <https://doi.org/10.1007/S11064-012-0739-8/TABLES/2>.
- Lim, M. M., & Young, L. J. (2006). Neuropeptidergic regulation of affiliative behavior and social bonding in animals. *Hormones and Behavior*, 50(4), 506-517. doi:10.1016/j.yhbeh.2006.06.028

- Liu Y & Wang ZX (2003). Nucleus accumbens oxytocin and dopamine interact to regulate pair bond formation in female prairie voles. *Neuroscience*, 121(3):537-544. doi:10.1016/s0306-4522(03)00555-4
- Litvin, Y., Murakami, G., & Pfaff, D. W. (2011). Effects of chronic social defeat on behavioral and neural correlates of sociality: Vasopressin, oxytocin and the vasopressinergic V1b receptor. *Physiology & Behavior*, 103 (3), 393-403.
- López-Ramírez CE, Arámbula-Almanza J, Camarena-Pulido EE. (2014). Oxitocina, la hormona que todos utilizan y que pocos conocen. *Ginecol Obstet Mex*, 2 (82), 472-482. <https://www.medigraphic.com/pdfs/ginobsmex/gom-2014/gom147f.pdf>
- Lukas, M., Toth, I., Reber, S. O., Slattery, D. A., Veenema, A. H., & Neumann, I. D. (2011). The neuropeptide oxytocin facilitates pro-social behavior and prevents social avoidance in rats and mice. *Neuropsychopharmacology*, 36(11), 2159-2168. doi:10.1038/npp.2011.95.
- Maaswinkel, H., Gispen, W. H., & Spruijt, B. M. (1997). Executive function of the hippocampus in social behavior in the rat. *Behavioral Neuroscience*, 111, 777-784. doi:10.1037/0735-7044.111.4.777.
- MacAskill, A. F., Cassel, J. M., & Carter, A. G. (2014). Cocaine exposure reorganizes cell type and input-specific connectivity in the nucleus accumbens. *Nature Neuroscience*, 17, 1198-1207. doi:10.1038/nn.3783.
- Martin, P. & Caro, T.M. (1985). On the functions of play and its role in behavioral development. *Adv Study Behav* 1985;15:59-103.
- Márquez, C., Rennie, S. M., Costa, D. F., & Moita, M. A. (2015). Prosocial choice in rats depends on food-seeking behavior displayed by recipients. *Current Biology*, 25, 1736-1745. doi: 10.1016/j.cub.2015.05.018.

- Mathews, I. Z., Waters, P., & McCormick, C. M. (2009). Changes in hyporesponsiveness to acute amphetamine and age differences in tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the brain over adolescence in male and female rats. *Developmental Psychobiology*, 51(5), 417-428. doi: 10.1002/dev.20381.
- McCormick, C. M., Green, M. R., & Simone, J. J. (2016). Translational relevance of rodent models of hypothalamic-pituitary-adrenal function and stressors in adolescence. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 70, 231-242. doi:10.1016/j.ynstr.2016.08.003.
- McCutcheon, J. E., & Marinelli, M. (2009). Age matters. *European Journal of Neuroscience*, 29(5), 997-1014. doi:10.1111/j.1460-9568.2009.06648.x.
- Meaney, M. J., & Stewart, J. (1981). A descriptive study of social development in the rat (*Rattus norvegicus*). *Animal Behaviour*, 29, 34-45. doi:10.1016/S0003-3472(81)80149-2
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2022). Salud mental, asunto de todos [Página web]. Recuperado de <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Salud-mental-asunto-de-todos.aspx>.
- Ministerio de Salud. (1993). Resolución No. 008430 de 1993. Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. *Diario Oficial* No. 40.892, 4 de octubre de 1993.
- Miura, H., Qiao, H., & Ohta, T. (2002). Attenuating effects of the isolated rearing condition on increased brain serotonin and dopamine turnover elicited by novelty stress. *Brain Research*, 926(1-2), 10-17. doi: 10.1016/S0006-8993(01)03201-2.
- Mumtaz, F., Khan, M. I., Zubair, M., & Dehpour, A. R. (2018). Neurobiology and consequences of social isolation stress in animal model. A comprehensive review.

- Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105(1), 1205–1222. doi:10.1016/j.biopha.2018.05.086.
- Nair-Roberts, R. G., Chatelain-Badie, S. D., Benson, E., White-Cooper, H., Bolam, J. P., & Ungless, M. A. (2008). Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic, and glutamatergic neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra, and retrorubral field in the rat. *Neuroscience*, 152, 1024-1031. doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.01.046
- Naneix, F., Marchand, A. R., Di Scala, G., Pape, J. R., & Coutureau, E. (2012). Parallel maturation of goal-directed behavior and dopaminergic systems during adolescence. *Journal of Neuroscience*, 32, 16223-16232. doi:10.1523/JNEUROSCI.3080-12.2012.
- National Research Council. (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (8th ed.). National Academies Press.
- Numan, M. (2007). Motivational systems and the neural circuitry of maternal behavior in the rat. *Developmental Psychobiology*, 49, 12-21. doi: 10.1002/dev.20198.
- O'Connell, L. A., & Hofmann, H. A. (2011). The Vertebrate Mesolimbic Reward System and Social Behavior Network: A Comparative Synthesis. *Journal of Comparative Neurology*, 519, 3599-3639. doi: 10.1002/cne.22735.
- Odell, W. D. (1990). *Sexual maturation in the rat*. In M. M. Grumbach, P. C. Sizonenko, & M. L. Aubert (Eds.), *Control of the onset of puberty* (pp. 183-210). Baltimore.
- Ojeda, S. R., & Urbanski, H. F. (1994). *Puberty in the rat*. In E. Knobil & J. D. Neill (Eds.), *The physiology of reproduction* (2nd ed., pp. 363-409). New York.
- Pagani, J. H., Zhao, M., Cui, Z., Avram, S. W., Caruana, D. A., Dudek, S. M., Young, W. S. (2015). Role of the vasopressin 1b receptor in rodent aggressive behavior and

- synaptic plasticity in hippocampal area CA2. *Molecular Psychiatry*, 20(4), 490–499. doi:10.1038/mp.2014.47.
- Paine, T. A., Swedlow, N., & Swetschinski, L. (2017). Decreasing GABA function within the medial prefrontal cortex or basolateral amygdala decreases sociability. *Behavioral Brain Research*, 317, 542–552. doi:10.1016/j.bbr.2016.09.042.
- Panksepp, J., & Beatty, W. W. (1980). Social deprivation and play in rats. *Behavioral and Neural Biology*, 30, 197–206. doi: 10.1016/S0163-1047(80)91077-8.
- Panksepp, J. B., and Lahvis, G. P. (2007). Social reward among juvenile mice. *Genes Brain Behav.* 6, 661–671. doi:10.1111/j.1601-183X.2006.00295.x.
- Paredes, R. G. (2009). Evaluating the neurobiology of sexual reward. *ILAR Journal*, 50(1), 15–27. doi:10.1093/ilar.50.1.15.
- Parra-Cruz, J. C., Martin-Neira, V., Martínez-Muñoz, N. D. , Jacobo-Suarez, S.C., Nieto-Capador, D., Cortés - Patiño, D.M., Soares-Filho, P. S. D.,(2023). Environmental Enrichment and Prosocial Behavior in Wistar Rats: an Exploratory Study. *Revista Brasileira de Terapia Comportamental e Cognitiva*, 24, 1–17. <https://doi.org/10.31505/rbtcc.v24i1.1752>
- Pattwell, S. S., Liston, C., Jing, D., Ninan, I., Yang, R. R., Witztum, J., ... Lee, F. S. (2016). Dynamic changes in neural circuitry during adolescence are associated with persistent attenuation of fear memories. *Nature Communications*, 7, 11475. doi:10.1038/ncomms11475.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2018). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Elsevier Academic Press.
- Peartree, N.A., Hood, L.E., Thiel, K.J., Sanabria, F., Pentkowski, N.S., Chandler, K.N., Neisewander, J.L. (2012). Limited physical contact through a mesh barrier is

- sufficient for social reward-conditioned place preference in adolescent male rats. *Physiol Behav.* 105(3):749-56. doi: 10.1016/j.physbeh.2011.10.001.
- Pellis, S. M., Hastings, E., Shimizu, T., Kamitakahara, H., Komorowska, J., Forgie, M. L., ... & Kolb, B. (2006). The effects of orbital frontal cortex damage on the modulation of defensive responses by rats in playful and nonplayful social contexts. *Behavioral Neuroscience*, 120, 72-84. doi:10.1037/0735-7044.120.1.72.
- Pellis, S. M., & McKenna, M. M. (1995). What do rats find rewarding in play fighting? *Behavioral and Neural Biology*, 57(1), 101-108. doi:10.1016/0166-4328(94)001618.
- Pellis, S. M., & Pellis, V. C. (2017). What is play fighting and what is it good for?. *Learning & Behavior*, 45(3), 255-263. doi:10.3758/s13420-017-0264-3.
- Pellis, S. M., Pellis, V. C., & Himmler, B. T. (2014). How play makes for a more adaptable brain: A comparative and neural perspective. *American Journal of Play*, 7, 73–98.
- Pistillo, F., Clementi, F., Zoli, M., & Gotti, C. (2014). Nicotinic, glutamatergic, and dopaminergic synaptic transmission and plasticity in the mesocorticolimbic system: Focus on nicotine effects. *Progress in Neurobiology*, 124, 1-27. doi: 10.1016/j.pneurobio.2014.10.002.
- Pistillo, F., Fasoli, F., Moretti, M., McClure-Begley, T., Zoli, M., Marks, M. J., & Gotti, C. (2016). Chronic nicotine and withdrawal affect glutamatergic but not nicotinic receptor expression in the mesocorticolimbic pathway in a region-specific manner. *Pharmacological Research*, 103, 167-176.
- Pokorny, J., & Yamamoto, T. (1981). Postnatal ontogenesis of hippocampal CA1 area in rats. Development of dendritic arborization in pyramidal neurons. *Brain Research Bulletin*, 7, 113-120. doi:10.1016/0361-9230(81)90075-7.

- 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, 1312-1318. doi:10.1523/JNEUROSCI.5039-08.2009.
- RStudio Team. (2021). RStudio: Integrated Development Environment for R [Software]. Retrieved from <https://www.rstudio.com/>
- Sajdyk, T. J., & Shekhar, A. (1997). Excitatory amino acid receptors in the basolateral amygdala regulate anxiety responses in the social interaction test. *Brain Research*, 764, 262-264. doi: 10.1016/s0006-8993(97)00594-5.
- Sanders, S. K., & Shekhar, A. (1995). Regulation of anxiety by GABAA receptors in the rat amygdala. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 52, 701-706. doi: 10.1016/0091-3057(95)00153-n.
- Savage, L. M., Buzzetti, R. A., & Ramirez, D. R. (2004). The effects of hippocampal lesions on learning, memory, and reward expectancies. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(2), 109-119. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.05.002>.
- Sesack, S. R., & Pickel, V. M. (1992). Prefrontal cortical efferents in the rat synapse on unlabeled neuronal targets of catecholamine terminals in the nucleus accumbens septi and on dopamine neurons in the ventral tegmental area. *Journal of Comparative Neurology*, 320(2), 145-160. doi: 10.1002/cne.903200202.
- Sesack, S. R., Carr, D. B., Omelchenko, N., & Pinto, A. (2003). Anatomical substrates for glutamate-dopamine interactions: Evidence for specificity of connections and extrasynaptic actions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1003, 36-52. doi: 10.1196/annals.1300.003.

- Shahrokh, D. K., Zhang, T. Y., Diorio, J., Gratton, A., & Meaney, M. J. (2010). Oxytocin-dopamine interactions mediate variations in maternal behavior in the rat. *Endocrinology*, 151(5), 2276-2286. doi:10.1210/en.2009-1271.
- Shamay-Tsoory, S. G., & Abu-Akel, A. (2016). The social salience hypothesis of oxytocin. *Biological Psychiatry*, 79, 194-202. doi:10.1016/j.biopsych.2015.07.020.
- Sharpe, L. L. (2005). Play fighting does not affect subsequent fighting success in wild meerkats. *Animal Behaviour*, 69, 1023–1029. doi:10.1016/j.anbehav.2004.07.013
- Smith, C. J., Poehlmann, M. L., Li, S., Ratnaseelan, A. M., Bredewold, R., Veenema, A. H. (2017). Age and sex differences in oxytocin and vasopressin V1a receptor binding densities in the rat brain: focus on the social decision-making network. *Brain Structure and Function*, 222, 981–1006. doi: 10.1007/s00429-016-1260-7.
- Song, Z., Borland, J. M., Larkin, T. E., O'Malley, M., Albers, H. E. (2016). Activation of oxytocin receptors, but not arginine-vasopressin V1a receptors, in the ventral tegmental area of male Syrian hamsters is essential for the reward-like properties of social interactions. *Psychoneuroendocrinology*, 74, 164-172.
- Spear, L. P. (2000). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24 (4), 417-463. doi:10.1016/S0149.
- Swanson, L. W., & Sawchenko, P. E. (1980). Paraventricular nucleus: A site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms. *Neuroendocrinology*, 31(6), 410-417. doi:10.1159/000123111.
- Takahashi, L. R., & Lore, R. K. (1983). Play fighting and the development of agonistic behavior in male and female rats. *Aggressive Behavior*, 9, 217–227. doi:10.1002/1098-2337(1983)9:3<217::AID-AB2480090303>3.0.CO;2-4.

- Tanaka, K., Osako, Y., Takahashi, K., Hidaka, C., Tomita, K., & Yuri, K. (2019). Effects of post-weaning social isolation on social behaviors and oxytocinergic activity in male and female rats. *Heliyon*, 5(5), doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e01646.
- Tanaka, K., Osako, Y., & Yuri, K. (2010). Juvenile social experience regulates central neuropeptides relevant to emotional and social behaviors. *Behavioural Neuroscience*, 166(4), 1036-1042. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.01.029>
- Tarazi, F. I., & Baldessarini, R. J. (2000). Comparative postnatal development of dopamine D1, D2, and D4 receptors in rat forebrain. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 18 (1), 29–37. [https://doi.org/10.1016/s0736-5748\(99\)00108-2](https://doi.org/10.1016/s0736-5748(99)00108-2).
- Teicher, M. H., Andersen, S. L., & Hostetter Jr., J. C. (1995). Evidence for dopamine receptor pruning between adolescence and adulthood in striatum but not nucleus accumbens. *Developmental Brain Research*, 89, 167-172. doi: 10.1016/0165-3806(95)00109-q.
- Tepper, J. M., & Bolam, J. P. (2004). Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Current Opinion in Neurobiology*, 14, 685-692. doi:10.1016/j.conb.2004.10.003.
- Thorpe, H. H. A., Hamidullah, S., Jenkins, B. W., & Khokhar, J. Y. (2020). Adolescent neurodevelopment and substance use: Receptor expression and behavioral consequences. *Pharmacology & Therapeutics*, 206, 107431. doi:10.1016/j.pharmthera.2019.107431
- Thiel, K. J., Okun, A. C., and Neisewander, J. L. (2008). Social reward-conditioned place preference: a model revealing an interaction between cocaine and social context rewards in rats. *Drug and Alcohol Dependence*, 96, 202–212. doi:10.1016/j.drugalcdep.2008.02.013.

- Thiel, K. J., Sanabria, F., & Neisewander, J. L. (2009). Synergistic interaction between nicotine and social rewards in adolescent male rats. *Psychopharmacology*, 204(3), 391-402. <https://doi.org/10.1007/s00213-009-1470-2>.
- Trezza, V., Damsteegt, R., and Vanderschuren, L. J. M. J. (2009). Conditioned place preference induced by social play behavior: parametrics, extinction, reinstatement, and disruption by methylphenidate. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 19, 659–669. doi: 10.1016/j.euroneuro.2009.03.006
- Tribollet, E., Charpak, S., Schmidt, A., Dubois-Dauphin, M., Dreifuss, J.J. (1989). Appearance and transient expression of oxytocin receptors in fetal, infant, and peripubertal rat brain studied by autoradiography and electrophysiology. *J Neurosci* 9: 1764 –1773.
- Tribollet, E., Dubois-Dauphin, M., Dreifuss, J.J., Barberis, C., Jard, S.(1992) Oxytocinreceptorsin the central nervous system. Distribution, development, and species differences. *Ann N Y Acad Sci* 652: 29 –38. doi:10.1111/j.1749-6632.1992.tb34343.x.
- Tritsch, N.X., Ding, J.B., & Sabatini, B.L. (2012). Dopaminergic neurons inhibit striatal output through non-canonical release of GABA. *Nature*, 490, 262-266. doi:10.1038/nature11466
- Van den Berg, C.L., Hol, T., Everts, H., Koolhaas, J.M., Van Ree, J.M., Spruijt, B.M. (1999a). Play is indispensable for an adequate development of coping with social challenges in the rat. *Dev Psychobiol*, 34 :129–38 doi:10.1002/(SICI)1098-2302(199903)34:2<129::AID-DEV6>3.0.CO;2-L
- Van den Berg, C. L., Pijlman, F. T., Koning, H. A., Diergaarde, L., Van Ree, J. M., and Spruijt, B. M. (1999<sup>b</sup>). Isolation changes the incentive value of sucrose and social behaviour in juvenile and adult rats. *Behav. Brain Res.* 106, 133–142. doi: 10.1016/s0166-4328(99)00099-6

- Vanderschuren, L.J., Achterberg, E.J., Trezza, V. (2016). The neurobiology of social play and its rewarding value in rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 70, 86-105. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.07.025.
- Vanderschuren, L. J. M. J., Niesink, R. J. M., & Van Ree, J. M. (1997). The neurobiology of social play behavior in rats. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 21, 309–326. doi: 10.1016/s0149-7634(96)00020-6.
- Vanderschuren, L. J. M. J., & Trezza, V. (2014). What the laboratory rat has taught us about social play behavior: Role in behavioral development and neural mechanisms. *Current Topics Behavioural Neuroscience*, 16, 189–212. doi:10.1007/7854\_2013\_268
- van Kerkhof, L. W., Damsteegt, R., Trezza, V., Voorn, P., & Vanderschuren, L. J. (2013). Social play behavior in adolescent rats is mediated by functional activity in medial prefrontal cortex and striatum. *Neuropsychopharmacology*, 38(10), 1899-909. doi: 10.1038/npp.2013.83.
- Varlinskaya, E. I., Spear, L. P., & Spear, N. E. (1999). Social behavior and social motivation in adolescent rats: Role of housing conditions and partner's activity. *Physiology & Behavior*, 67, 475–482. doi: 10.1016/s0031-9384(98)00285-6
- Varlinskaya, E. I., & Spear, L. P. (2002). Social interactions in adolescent and adult Sprague-Dawley rats: impact of social deprivation and test context familiarity. *Behavioural Brain Research*, 133(1), 31-41. doi: 10.1016/j.bbr.2007.11.024.
- Verheij, M. M. M., & Cools, A. R. (2008). Twenty years of dopamine research: individual differences in the response of accumbal dopamine to environmental and pharmacological challenges. *European Journal of Pharmacology*, 585, 228– 244.

- Vermeersch, H., T'Sjoen, G., Kaufman, J.-M., & Van Houtte, M. (2013). Social science theories on adolescent risk-taking: The relevance of behavioral inhibition and activation. *Youth & Society*, 45(1), 27-53. doi:10.1177/0044118X11409014
- Vialou, V., Bagot, R.C., Cahill, M.E., Ferguson, D., Robison, A.J., Dietz, D.M., Fallon, B., Mazei-Robison, M., Ku, S.M., Harrigan, E., Winstanley, C.A., Joshi, T., Feng, J., Berton, O., & Nestler, E.J. (2014). Prefrontal cortical circuit for depression- and anxiety-related behaviors mediated by cholecystokinin: role of DeltaFosB. *Journal of Neuroscience*, 34, 3878-3887. doi:10.1523/JNEUROSCI.1787-13.2014
- Vialou, V., Robison, A. J., Laplant, Q. C., Covington, H. E. 3rd, Dietz, D. M., Ohnishi, Y. N., Mouzon, E., Rush, A. J. 3rd, Watts, E. L., Wallace, D. L., Iñiguez, S. D., Ohnishi, Y. H., Steiner, M. A., Warren, B. L., Krishnan, V., Bolaños, C. A., Neve, R. L., Ghose, S., Berton, O., ... Nestler, E. J. (2010).  $\Delta$ FosB in brain reward circuits mediates resilience to stress and antidepressant responses. *Nature Neuroscience*, 13(6), 745-752. doi: 10.1038/nn.2551.
- Walker, D.M., Bell, M.R., Flores, C., Gulley, J.M., Willing, J., & Paul, M.J. (2017). Adolescence and Reward: Making Sense of Neural and Behavioral Changes Amid the Chaos. *The Journal of Neuroscience*, 37(45), 10855-10866. doi:10.1523/jneurosci.1834-17.2017.
- Wang, L. P., Li, F., Wang, D., Xie, K., Wang, D., Shen, X., y Tsien, J. Z. (2011). NMDA receptors in dopaminergic neurons are crucial for habit learning. *Neuron*, 72, 1055-1066
- Wassum, K.M., & Izquierdo, A. (2015). The basolateral amygdala in reward learning and addiction. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 57, 271-283. doi:10.1016/j.neubiorev.2015.08.017.

- Werner, C. M., & Anderson, D. F. (1976). Opportunity for interaction as reinforcement in a T-maze. *Personality and Social Psychology Bulletin*, 2(2), 166-169. <https://doi.org/10.1177/0146167276002002>.
- Whitaker, L.R., Degoulet, M. y Morikawa, H. (2013). Social Deprivation Enhances VTA Synaptic Plasticity and Drug-Induced Contextual Learning. *Neuron*, 77 (2), 335-345. doi: 10.1016/j.neuron.2012.11.022.
- Wise, R.A. (2002). Brain reward circuitry: Insights from unsensed incentives. *Neuron*, 36, 229-240. doi:10.1016/S0896-6273(02)00965-0.
- Xiao, L., Priest, M. F., Nasenbeny, J., Lu, T., & Kozorovitskiy, Y. (2017). Biased oxytocinergic modulation of midbrain dopamine systems. *Neuron*, 95, 368-384. doi: 10.1016/j.neuron.2017.06.003.
- Yates, J. R., Beckmann, J. S., Meyer, A. C., & Bardo, M. T. (2013). Concurrent choice for social interaction and amphetamine using conditioned place preference in rats: Effects of age and housing condition. *Drug and Alcohol Dependence*, 129(3), 240-246. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2013.02.024>.
- Yin, H. H., Ostlund, S. B., & Balleine, B. W. (2008). Reward-guided learning beyond dopamine in the nucleus accumbens: the integrative functions of cortico-basal ganglia networks. *European Journal of Neuroscience*, 28(8), 1437-1448. doi: 10.1111/j.1460-9568.2008.06422.x.
- Yorgason, J. T., Espana, R. A., Konstantopoulos, J. K., Weiner, J., & Jones, S. R. (2013). Enduring increases in anxiety-like behavior and rapid nucleus accumbens dopamine signaling in socially isolated rats. *European Journal of Neuroscience*, 37, 1022–1031. doi: 10.1111/ejn.12113.
- Young, S.E., Corley, R.P., Stallings, M.C., Rhee, S.H., Crowley, T.J., & Hewitt, J.K. (2002). Substance use, abuse, and dependence in adolescence: Prevalence, symptom profiles,

- and correlates. *Drug and Alcohol Dependence*, 68, 309-322. doi:10.1016/S0376-8716(02)00225-9.
- Young, L. J., & Wang, Z. (2004). The neurobiology of pair bonding. *Nature Neuroscience*, 7(10), 1048-1054. DOI: 10.1038/nn1327.
- Zahm, D.S. (2000). An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24(1), 85-105. doi:10.1016/S0149-7634(99)00058-X.
- Zanos, P., Georgiou, P., Weber, C., & Theodosios, D. T. (2015). Oxytocin receptor activation in the ventral tegmental area regulates social play and anxiety-like behavior in juvenile rats. *Neuroscience*, 284, 282-293.
- Zhang, Y., Crofton, E. J., Li, D., Lobo, M. K., Fan, X., Nestler, E. J., & Green, T. A. (2014). Overexpression of DeltaFosB in nucleus accumbens mimics the protective addiction phenotype, but not the protective depression phenotype of environmental enrichment. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00297>
- Zweifel, L. S., Parker, J. G., Lobb, C. J., Rainwater, A., Wall, V. Z., Fadok, J. P., Darvas, M., Kim, M. J., Mizumori, S. J., Paladini, C. A., y otros (2009). Disruption of NMDAR-dependent burst firing by dopamine neurons provides selective assessment of phasic dopamine-dependent behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 7281-7288.

## Anexos

### Anexo 1. Operacionalización de las conductas de interacción social.

#### Juego social

**Abalanzar.** Un animal se acerca o toca con el hocico el cuello del compañero con fuerza y velocidad.

**Inmovilizar** . Los sujetos ruedan en el suelo. Utilizan sus patas traseras y delanteras para tomar una posición de ventaja sobre su compañero. Un sujeto utiliza su peso corporal para inmovilizar en el suelo a su compañero. El sujeto sometido utiliza sus patas traseras o delanteras para tratar de librarse de la inmovilización.

**Perseguir.** Un animal corre o se aleja rápidamente del atacante y el otro animal le persigue con velocidad, el hocico del animal que persigue NO está dirigido a la zona anogenital del otro animal. Un sujeto se moverá con una velocidad aparentemente mayor a la de caminar, mientras que su compañero lo sigue a una velocidad similar, dando la impresión de querer acercarse o alcanzar al primer sujeto.

#### Investigación Social

**Detección anogenital.** Un sujeto dirige el hocico hacia la parte genital del compañero o un sujeto acerca su hocico a la parte genital de su compañero mientras que esté se encuentra erguido sobre sus patas traseras o apoyado sobre el dorso del otro sujeto. También se observa detección anogenital cuando ambos sujetos se persiguen en círculos dirigiendo sus hocicos a la zona genital del compañero.

**Olfatear.** Un sujeto se aproxima hacia su compañero, acerca su hocico y lo olfatea o acercar las vibrisas a alguna parte del cuerpo del compañero No se tendrá en cuenta aquellos olfateos donde los sujetos realicen la conducta por lapsos menores a 2 segundos. Tampoco será tenido en cuenta como olfateo, cuando los sujetos se encuentren frente a frente y junten sus hocicos.

**Tocar con Patas.** Un sujeto ubica una o dos de sus patas sobre el dorso de su compañero. Otra forma de tocar con patas se observa cuando un sujeto erguido sobre sus patas traseras toca a su compañero con una o dos de sus patas delanteras mientras este lo detecta anogenital mente.

## Anexo 2. ANOVA análisis línea de base preferido, no preferido y centro.

### Prueba de esfericidad de Mauchly<sup>a</sup>

Efecto intra- sujetos	W de Mauchly	Aprox. Chi- cuadrado	gl	Sig.	Épsilon <sup>b</sup> Greenhouse- Geisser
lado	,937	2,470	2	,291	,941

### Pruebas de efectos intra-sujetos

Origen		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad	Potencia observada
Lado	Esfericidad asumida	689909,477	2	324747,262	135,247	<,001	,776	270,494	1,000
	Greenhouse- Geisser	689909,477	1,882	345188,019	135,247	<,001	,776	254,477	1,000
	Huyh-Feldt	689909,477	2,000	324747,262	135,247	<,001	,776	270,494	1,000
	Límite inferior	689909,477	1,000	649494,524	135,247	<,001	,776	135,247	1,000
Lado* Tratamiento	Esfericidad asumida	14499,633	6	2416,606	1,006	,427	,072	6,039	,375
	Greenhouse- Geisser	14499,633	5,645	2568,715	1,006	,425	,072	5,681	,361
	Huyh-Feldt	14499,633	6,000	2416,606	1,006	,427	,072	6,039	,375
	Límite inferior	14499,633	3,000	4833,211	1,006	,400	,072	3,019	,253
Error (LADO)	Esfericidad asumida	187288,863	78	2401,139					
	Greenhouse- Geisser	187288,863	73,381	2552,276					
	Huyh-Feldt	187288,863	78,000	2401,139					

**Pruebas de efectos inter-sujetos**

Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado	Parámetro de no centralidad	Potencia observada
Intersección	5160000,0	1	5160000,0	2,766E+19	<,001	1,000	2,766E+19	1,000
Tratamiento	,000	3	,000	,000	1,000	,000	,000	,050
Error	7,276E-12	39	1,866E-13					
a. Se ha calculado utilizando alpha = ,05								
Límite inferior	187288,863	39,000	4802,279					

a. Se ha calculado utilizando alpha = ,05

**Post Hoc Comparaciones – grupos experimentales**

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Limite inferior	Limite Superior
GR_NO_SOC	GR_SOC	1,066E-14	,000	1,000	-3,990E-7	3,990E-7
	ISO_NO_SOC	3,242E-14	,000	1,000	-3,804E-7	3,804E-7
	ISO_SOC	4,707E-14	,000	1,000	-3,616E-7	3,616E-7
GR_SOC	GR_NO_SOC	-1,066E-14	,000	1,000	-3,990E-7	3,990E-7
	ISO_NO_SOC	2,176E-14	,000	1,000	-3,804E-7	3,804E-7
	ISO_SOC	3,642E-14	,000	1,000	-3,616E-7	3,616E-7
ISO_NO_SOC	GR_NO_SOC	-3,242E-14	,000	1,000	-3,804E-7	3,804E-7
	GR_SOC	-2,176E-14	,000	1,000	-3,804E-7	3,804E-7
	ISO_SOC	1,465E-14	,000	1,000	-3,410E-7	3,410E-7
ISO_SOC	GR_NO_SOC	-4,707E-14	,000	1,000	-3,616E-7	3,616E-7
	GR_SOC	-3,642E-14	,000	1,000	-3,616E-7	3,616E-7
	ISO_NO_SOC	-1,465E-14	,000	1,000	-3,410E-7	3,410E-7

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 1,658E-13.

**Post Hoc Comparaciones- Tratamiento \* lado**

(I)Treatment	(J)lado	Media	Desv. Error	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
GR_NO_SOC	1	126,914	12,681	101,264	152,565
	2	193,748	12,275	168,920	218,576
	3	279,338	14,903	249,194	309,482
GR_SOC	1	118,549	12,681	92,898	144,199
	2	203,130	12,275	178,302	227,958
	3	278,322	14,903	248,178	308,466
ISO_NO_SOC	1	99,655	11,471	76,453	122,857
	2	189,936	11,103	167,478	212,394
	3	310,409	13,480	283,142	337,675
ISO_SOC	1	118,506	10,168	97,940	139,072
	2	181,316	9,842	161,410	201,223
	3	300,177	11,949	276,008	324,347

**Post Hoc Comparaciones- lado**

(J)lado	(J)lado	Diferencias de		Sig. <sup>b</sup>	Intervalo de confianza al 95%	
		media (I-J)	Desv. Error		Límite inferior	Límite superior
1	2	-76,126*	9,312	<,001	-99,422	-52,831
	3	-176,155*	11,536	<,001	-205,014	-147,297
2	1	76,126*	9,312	<,001	52,831	99,422
	3	-100,029*	11,246	<,001	-128,164	-71,894
3	1	176,155*	11,536	<,001	147,297	205,104
	2	100,029*	11,246	<,001	71,894	128,164

**Contrast Tables****Custom Contrast - Condicion \* Social \* Sesion**

Comparison	Estimate	SE	df	t	p
1	5.389	22.058	39.000	0.244	0.808
2	-28.351	22.058	39.000	-1.285	0.206
3	-27.817	19.952	39.000	-1.394	0.171
4	-66.359	17.686	39.000	-3.752	< .001

**Custom Contrast Coefficients - Condicion \* Social \* Sesion**

Condicion	Social	Sesion	Comparison	Comparison	Comparison	Comparison
			1	2	3	4
Aislado	NoSocial	Linea de base	0	0	1	0
Grupo			1	0	0	0
Aislado	Social		0	0	0	1
Grupo			0	1	0	0
Aislado	NoSocial	Prueba	0	0	-1	0
Grupo			-1	0	0	0
Aislado	Social		0	0	0	-1
Grupo			0	-1	0	0

**Anexo 3. Análisis tiempo brutos línea de base y prueba**

**ANOVA tiempo bruto en lado no preferido**

**Within Subjects Effects**

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	$\eta^2_p$
Sesion	24167.938	1	24167.938	11.038	0.002	0.221
Sesion * Condicion	6656.041	1	6656.041	3.040	0.089	0.072
Sesion * Social	7106.901	1	7106.901	3.246	0.079	0.077
Sesion * Condicion * Social	29.981	1	29.981	0.014	0.907	3.510×10 <sup>-4</sup>
Residuals	85391.570	39	2189.527			

*Note.* Type II Sum of Squares

**Between Subjects Effects**

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	$\eta^2_p$
Condicion	440.541	1	440.541	0.160	0.691	0.004
Social	6334.722	1	6334.722	2.304	0.137	0.056
Condicion * Social	1265.741	1	1265.741	0.460	0.501	0.012
Residuals	107215.889	39	2749.125			

*Note.* Type II Sum of Squares

*Test for Equality of Variances (Levene's)*

**Between Subjects Effects**

Cases	Sum of Squares		df	Mean Square	F	p	$\eta^2_p$
	F	df1					
NP-Pretest	0.543	3	39	0.655			
NP-Test	0.699	3	39	0.558			

## Post Hoc Tests

**Post Hoc Comparisons - Sesion**

	Mean Difference	SE	t	Cohen's d	$p_{holm}$
Línea de base Prueba	-29.285	10.259	-2.854	-0.589	0.007

*Note.* Results are averaged over the levels of: Condición, Social

**Post Hoc Comparisons - Condición \* Social \* Sesion**

		Mean Difference	SE	t	Cohen's d	$p_{holm}$
Aislado, NoSocial, Línea de base	Grupo, NoSocial, Línea de base	-3.812	22.335	0.171	-0.077	1.000
	Aislado, Social, Línea de base	8.620	20.022	0.431	0.173	1.000
	Grupo, Social, Línea de base	-13.194	22.335	0.591	-0.266	1.000
	Aislado, NoSocial, Prueba	-27.817	19.952	1.394	-0.560	1.000
	Grupo, NoSocial, Prueba	1.577	22.335	0.071	0.032	1.000
	Aislado, Social, Prueba	-57.740	20.022	2.884	-1.162	0.137
	Grupo, Social, Prueba	-41.545	22.335	1.860	-0.836	1.000
Grupo, NoSocial, Línea de base	Aislado, Social, Línea de base	12.431	21.231	0.586	0.250	1.000
	Grupo, Social, Línea de base	-9.382	23.425	0.401	-0.189	1.000
	Aislado, NoSocial, Prueba	-24.005	22.335	1.075	-0.483	1.000
	Grupo, NoSocial, Prueba	5.389	22.058	0.244	0.108	1.000
	Aislado, Social, Prueba	-53.928	21.231	2.540	-1.085	0.327

**Post Hoc Comparisons - Condicion \* Social \* Sesion**

		Mean Difference	SE	t	Cohen's d	Pholm
	Grupo, Social, Prueba	-37.733	23.425	1.611	-0.759	1.000
Aislado, Social, Línea de base	Grupo, Social, Línea de base	-21.813	21.231	1.027	-0.439	1.000
	Aislado, NoSocial, Prueba	-36.436	20.022	1.820	-0.733	1.000
	Grupo, NoSocial, Prueba	-7.042	21.231	0.332	-0.142	1.000
	Aislado, Social, Prueba	-66.360	17.686	3.752	-1.335	0.016
	Grupo, Social, Prueba	-50.165	21.231	2.363	-1.010	0.496
Grupo, Social, Línea de base	Aislado, NoSocial, Prueba	-14.623	22.335	0.655	-0.294	1.000
	Grupo, NoSocial, Prueba	14.771	23.425	0.631	0.297	1.000
	Aislado, Social, Prueba	-44.546	21.231	2.098	-0.896	0.901
	Grupo, Social, Prueba	-28.351	22.058	1.285	-0.571	1.000
Aislado, NoSocial, Prueba	Grupo, NoSocial, Prueba	29.394	22.335	1.316	0.592	1.000
	Aislado, Social, Prueba	-29.923	20.022	1.495	-0.602	1.000
	Grupo, Social, Prueba	-13.728	22.335	0.615	-0.276	1.000
Grupo, NoSocial, Prueba	Aislado, Social, Prueba	-59.317	21.231	2.794	-1.194	0.171
	Grupo, Social, Prueba	-43.123	23.425	1.841	-0.868	1.000
Aislado, Social, Prueba	Grupo, Social, Prueba	16.195	21.231	0.763	0.326	1.000

*Note.* P-value adjusted for comparing a family of 28

**ANOVA tiempo bruto en lado preferido****Within Subjects Effects**

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	$\eta^2_p$
Sesion	89804.128	1	89804.128	53.780	< .001	0.580
Sesion * Condicion	12962.854	1	12962.854	7.763	0.008	0.166
Sesion * Social	40.029	1	40.029	0.024	0.878	$6.143 \times 10^{-4}$
Sesion * Condicion * Social	1239.282	1	1239.282	0.742	0.394	0.019
Residuals	65124.172	39	1669.851			

Note. Type II Sum of Squares

**Between Subjects Effects**

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	$\eta^2_p$
Condicion	35.217	1	35.217	0.011	0.916	$2.916 \times 10^{-4}$
Social	1267.846	1	1267.846	0.409	0.526	0.010
Condicion * Social	201.304	1	201.304	0.065	0.800	0.002
Residuals	120756.361	39	3096.317			

Note. Type II Sum of Squares

**Test for Equality of Variances (Levene's)**

	F	df1	df2	p
P-Pretest	1.119	3	39	0.353
P-Test	1.801	3	39	0.163

**Post Hoc Comparisons - Sesion**

	Mean Difference	SE	t	Cohen's d	$p_{holm}$
Linea de base Prueba	60.866	8.959	6.794	1.247	< .001

Note. Results are averaged over the levels of: Condicion, Social

**Contrast Tables****Custom Contrast - Condicion \* Social \* Sesion**

Comparison	Estimate	SE	df	t	p
1	-25.254	19.263	39.000	-1.311	0.198

**Custom Contrast - Condicion \* Social \* Sesion**

Comparison	Estimate	SE	df	t	p
2	-45.835	19.263	39.000	-2.379	0.022
3	-91.334	17.424	39.000	-5.242	< .001
4	-81.041	15.445	39.000	-5.247	< .001

**Custom Contrast Coefficients - Condicion \* Social \* Sesion**

Condicion	Social	Sesion	Comparison			
			1	2	3	4
Aislado	NoSocial	Linea de base	0	0	-1	0
Grupo			-1	0	0	0
Aislado	Social		0	0	0	-1
Grupo			0	-1	0	0
Aislado	NoSocial	Prueba	0	0	1	0
Grupo			1	0	0	0
Aislado	Social		0	0	0	1
Grupo			0	1	0	0

**ANOVA tiempo bruto en centro****Within Subjects Effects**

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	$\eta^2_p$
Sesion	14827.158	1	14827.158	20.395	< .001	0.343
Sesion * Condicion	3287.729	1	3287.729	4.522	0.040	0.104
Sesion * Social	3073.029	1	3073.029	4.227	0.047	0.098
Sesion * Condicion * Social	4495.897	1	4495.897	6.184	0.017	0.137
Residuals	28353.625	39	727.016			

Note. Type II Sum of Squares

**Between Subjects Effects**

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	$\eta^2_p$
Condicion	3.440	1	3.440	0.001	0.969	$3.802 \times 10^{-5}$
Social	459.821	1	459.821	0.198	0.659	0.005
Condicion * Social	24.835	1	24.835	0.011	0.918	$2.744 \times 10^{-4}$

**Between Subjects Effects**

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	$\eta^2_p$
Residuals	90485.082	39	2320.130			

*Note.* Type II Sum of Squares

## Assumption Checks

**Test for Equality of Variances (Levene's)**

	F	df1	df2	p
Centro- Pretest	0.476	3	39	0.701
Centro- Test	1.108	3	39	0.357

## Post Hoc Tests

**Post Hoc Comparisons - Sesion**

	Mean Difference	SE	t	Cohen's d	$p_{holm}$
Línea de base Prueba	-25.799	5.912	-4.364	-0.661	< .001

*Note.* Results are averaged over the levels of: Condicion, Social

**Post Hoc Comparisons - Condicion \* Social \* Sesion**

	Mean Difference	SE	t	Cohen's d	$p_{holm}$
Aislado, NoSocial, Línea de base	-27.259	17.544	1.554	-0.698	1.000
Aislado, Social, línea de base	-18.851	15.727	1.199	-0.483	1.000
Grupo, Social, línea de base	-18.893	17.544	1.077	-0.484	1.000
Aislado, NoSocial, Prueba	-63.517	11.497	5.525	-1.627	< .001
Grupo, NoSocial, Prueba	-34.774	17.544	1.982	-0.891	1.000
Aislado, Social, Prueba	-33.533	15.727	2.132	-0.859	0.925
Grupo, Social, Prueba	-36.377	17.544	2.073	-0.932	1.000

**Post Hoc Comparisons - Condicion \* Social \* Sesion**

		Mean Difference	SE	t	Cohen's d	P <sub>holm</sub>	
Grupo, NoSocial, línea de base	Aislado, Social, línea de base	8.408	16.677	0.504	0.215	1.000	
	Grupo, Social, línea de base	8.366	18.400	0.455	0.214	1.000	
	Aislado, NoSocial, Prueba	-36.258	17.544	2.067	-0.929	1.000	
	Grupo, NoSocial, Prueba	-7.515	12.711	0.591	-0.193	1.000	
	Aislado, Social, Prueba	-6.274	16.677	0.376	-0.161	1.000	
	Grupo, Social, Prueba	-9.118	18.400	0.496	-0.234	1.000	
Aislado, Social, línea de base	Grupo, Social, línea de base	-0.042	16.677	0.003	-0.001	1.000	
	Aislado, NoSocial, Prueba	-44.666	15.727	2.840	-1.144	0.165	
	Grupo, NoSocial, Prueba	-15.923	16.677	0.955	-0.408	1.000	
	Aislado, Social, Prueba	-14.682	10.191	1.441	-0.376	1.000	
	Grupo, Social, Prueba	-17.526	16.677	1.051	-0.449	1.000	
	Grupo, Social, línea de base	Aislado, NoSocial, Prueba	-44.623	17.544	2.544	-1.143	0.351
Grupo, NoSocial, Prueba		-15.881	18.400	0.863	-0.407	1.000	
Aislado, Social, Prueba		-14.639	16.677	0.878	-0.375	1.000	
Grupo, Social, Prueba		-17.484	12.711	1.376	-0.448	1.000	
Aislado, NoSocial, Prueba		Grupo, NoSocial, Prueba	28.743	17.544	1.638	0.736	1.000
		Aislado, Social, Prueba	29.984	15.727	1.907	0.768	1.000
	Grupo, Social, Prueba	27.140	17.544	1.547	0.695	1.000	
Grupo, NoSocial, Prueba	Aislado, Social, Prueba	1.241	16.677	0.074	0.032	1.000	

**Post Hoc Comparisons - Condicion \* Social \* Sesion**

		Mean Difference	SE	t	Cohen's d	$p_{holm}$
	Grupo, Social, Prueba	-1.603	18.400	-0.087	-0.041	1.000
Aislado, Social, Prueba	Grupo, Social, Prueba	-2.844	16.677	-0.171	-0.073	1.000

*Note.* P-value adjusted for comparing a family of 28

**Anexo 4. Análisis conductas de interacción social****ANOVA tiempo de juego****Mitin Subjects Effects**

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	$\eta^2_p$
Sesion	61905.424	1	61905.424	19.469	< .001	0.520
Sesion * Treatment	4080.400	1	4080.400	1.283	0.272	0.067
Residuals	57235.501	18	3179.750			

*Note.* Type III Sum of Squares

**Between Subjects Effects**

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	$\eta^2_p$
Treatment	$1.170 \times 10^{+6}$	1	$1.170 \times 10^{+6}$	203.798	< .001	0.919
Residuals	103369.370	18	5742.743			

*Note.* Type III Sum of Squares

**Assumption Checks****Test for Equality of Variances (Levene's)**

	F	df1	df2	p
JG 1 CS	2.122	1	18	0.162
JG 2 CS	3.744	1	18	0.069

**Post Hoc Tests****Post Hoc Comparisons - Sesion**

	Mean Difference	SE	t	$p_{holm}$
1 SESION 4 SESION	-78.680	17.832	-4.412	< .001

**Post Hoc Comparisons - Sesion**

	Mean Difference	SE	t	p <sub>holm</sub>
--	-----------------	----	---	-------------------

*Note.* Results are averaged over the levels of: Treatment

**Post Hoc Comparisons - Treatment \* Sesion**

	Mean Difference	SE	t	p <sub>holm</sub>
(Gp/ 1 SESION) (Iso/ 1 SESION)	-362.305	29.871	-12.129	< .001
(Gp/ 4 SESION)	-98.880	25.218	-3.921	0.002
(Iso/ 4 SESION)	-420.785	29.871	-14.087	< .001
(Iso/1 SESION) (Gp/ 4 SESION)	263.425	29.871	8.819	< .001
(Iso/ 4 SESION)	-58.480	25.218	-2.319	0.032
(Gp/ 4 SESION) (Iso/ 4 SESION)	-321.905	29.871	-10.777	< .001

*Note.* P-value adjusted for comparing a family of 6

**Post Hoc Comparisons - Treatment**

	Mean Difference	SE	t	p <sub>holm</sub>
(Gp/, so) (Iso/ so)	-342.105	23.964	-14.276	< .001

*Note.* Results are averaged over the levels of: Session

**ANOVA tiempo de Investigación**

\$ttest.A

[1] 73.40281

\$p.value.A

[1] 1.606226e-07

\$ttest.B

[1] 77.0449

\$p.value.B

[1] 0

\$ttest.AB

[1] 0.003767661

\$p.value.AB

```

[1] 0.9510556

$avg.ranks

      [,1] [,2]

[1,] 35.2 20.8

[2,] 20.1  5.9

$rel.effects

      [,1] [,2]

[1,] 0.8675 0.5075

[2,] 0.4900 0.1350

```

## Anexo 5. Análisis de correlación

### Correlación grupo

#### Spearman's Correlations

Variable	JG 4 CS+ Delta con NP	
1. JG 4 CS+	Spearman's rho	—
	p-value	—
	Upper 95% CI	—
	Lower 95% CI	—
2. Delta con NP	Spearman's rho	-0.310 —
	p-value	0.462 —
	Upper 95% CI	0.615 —
	Lower 95% CI	-0.926 —

\*p < .05, \*\* p < .01, \*\*\* p < .001

### Correlación Aislado

#### Spearman's Correlations

Variable	JG 4 CS+ Delta con NP	
1. JG 4 CS+	Spearman's rho	—
	p-value	—
	Upper 95% CI	—
	Lower 95% CI	—
2. Delta con NP	Spearman's rho	-0.595 —

**Spearman's Correlations**

Variable	JG 4 CS+ Delta con NP	
p-value	0.132	—
Upper 95% CI	0.189	—
Lower 95% CI	-0.916	—

\*p < .05, \*\* p < .01, \*\*\* p < .001

**Análisis de correlación con coeficiente usado em Douglas****Animales aislados****Correlación Tabla**

		Pearson			Spearman	
		n	r	p	rho	p
JG 4 CS+	- Coeficiente CPP test	8	-0.901	0.002	-0.952	0.001

**Animales Grupo****Correlación Tabla**

		Pearson			Spearman	
		n	r	p	rho	p
JG 4 CS+	- Coeficiente CPP test	8	-0.276	0.508	-0.405	0.327

**Anexo 6. Análisis medidas fisiológicas****ANOVA densidad integrada Tirosina Hidroxilasa****ANOVA - IntDen (AU) 1**

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	$\eta^2_p$
Condición	1232.316	1	1232.316	9.367	0.007	0.369
Social	428.586	1	428.586	3.258	0.090	0.169
Condición * Social	45.904	1	45.904	0.349	0.563	0.021
Residuals	2104.890	16	131.556			

Note. Type III Sum of Squares

## Assumption Checks

**Test for Equality of Variances (Levene's)**

F	df1	df2	p
1.940	3.000	16.000	0.164

## Post Hoc Tests

**Standard****Post Hoc Comparisons - Condicion**

	Mean Difference	SE	t	p <sub>holm</sub>
GP ISO	-15.699	5.129	-3.061	0.007

*Note.* Results are averaged over the levels of: Social

**Post Hoc Comparisons - Social**

	Mean Difference	SE	t	p <sub>holm</sub>
NO_SOCIAL SOCIAL	9.258	5.129	1.805	0.090

*Note.* Results are averaged over the levels of: Condicion

**Post Hoc Comparisons - Condicion \* Social**

		Mean Difference	SE	t	p <sub>holm</sub>
GP NO_SOCIAL	ISO NO_SOCIAL	-18.729	7.254	-2.582	0.100
	GP SOCIAL	6.228	7.254	0.859	0.776
	ISO SOCIAL	-6.441	7.254	-0.888	0.776
ISO NO_SOCIAL	GP SOCIAL	24.958	7.254	3.440	0.020
	ISO SOCIAL	12.288	7.254	1.694	0.400
GP SOCIAL	ISO SOCIAL	-12.669	7.254	-1.746	0.400

*Note.* P-value adjusted for comparing a family of 4

**ANOVA oxitocina conteo****ANOVA - oxitocina count**

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	$\eta^2_p$
Condición	835.860	1	835.860	4.274	0.058	0.234
Social	150.298	1	150.298	0.769	0.395	0.052
Condición * Social	36.947	1	36.947	0.189	0.670	0.013

**ANOVA - oxitocina count**

<b>Cases</b>	<b>Sum of Squares</b>	<b>df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F</b>	<b>p</b>	<b><math>\eta^2_p</math></b>
Residuals	2737.726	14	195.552			

*Note.* Type II Sum of Squares

## Assumption Checks

**Test for Equality of Variances (Levene's)**

<b>F</b>	<b>df1</b>	<b>df2</b>	<b>p</b>
2.406	3.000	14.000	0.111

## Post Hoc Tests

**Standard****Post Hoc Comparisons - Condición**

	<b>Mean Difference</b>	<b>SE</b>	<b>t</b>	<b><math>p_{holm}</math></b>
GP ISO	13.949	6.633	2.103	0.054

*Note.* Results are averaged over the levels of: Social