

**EFFECTOS DE LA EDAD Y EL SEXO SOBRE LA MEMORIA ESPACIAL DE RATAS
WISTAR EN EL LABERINTO RADIAL DE 8 BRAZOS**

TRABAJO DE GRADO

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE COLOMBIA

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

FORMACION INVESTIGATIVA

BOGOTÁ D.C. NOVIEMBRE de 2018

**EFFECTOS DE LA EDAD Y EL SEXO SOBRE LA MEMORIA ESPACIAL DE RATAS
WISTAR EN EL LABERINTO RADIAL DE 8 BRAZOS**

TRABAJO DE GRADO

TATIANA MANRIQUE ZULUAGA PhD

ASESORA

**Daniela Alejandra Arévalo Contreras, código 425775, Carol Zolangie González González,
código 424152 y Carol Johana Jacobo Durán, código 424411**

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE COLOMBIA
FACULTAD DE PSICOLOGÍA
FORMACION INVESTIGATIVA
BOGOTA D.C., NOVIEMBRE de 2018**



Atribución-NoComercial 2.5 Colombia (CC BY-NC 2.5)

La presente obra está bajo una licencia:

Atribución-NoComercial 2.5 Colombia (CC BY-NC 2.5)

Para leer el texto completo de la licencia, visita:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/co/>

Usted es libre de:



Compartir - copiar, distribuir, ejecutar y comunicar públicamente la obra

hacer obras derivadas

Bajo las condiciones siguientes:



Atribución — Debe reconocer los créditos de la obra de la manera especificada por el autor o el licenciante (pero no de una manera que sugiera que tiene su apoyo o que apoyan el uso que hace de su obra).



No Comercial — No puede utilizar esta obra para fines comerciales.

“Las opiniones expresadas en este trabajo son responsabilidad de sus autores, la Facultad de Psicología la Universidad Católica de Colombia sólo ha verificado el cumplimiento de las condiciones mínimas de rigor científico y de manejo ético”.

(Artículo, 65 Reglamento Interno)

Agradecimientos

El presente trabajo de investigación fue realizado bajo la supervisión de los docentes investigadores Carlos Enrique Garavito quien con esfuerzo y paciencia nos instruyó en el mundo de la experimentación animal, y de Tatiana Manrique Zuluaga, quien con compromiso, dedicación y entrega nos acompañó durante el desarrollo de nuestro trabajo, guiándonos y siendo una influencia facilitadora del conocimiento y aprendizaje constante. Agradecemos a cada uno de los integrantes del Semillero de investigación de la conducta animal, quienes fueron la columna vertebral de nuestro proyecto y quienes hicieron posible el desarrollo óptimo de la investigación; por su esfuerzo y constancia diaria, por sus horas de sueño aplazadas y su cansancio postergado por un fin investigativo. A los laboratoristas quienes estuvieron a disposición del trabajo durante todo el proceso y a la institución educativa, quien fue nuestra promotora y benefactora de nuestros aprendizajes y logros.

Finalmente agradecemos a nuestras familias por ser un apoyo y enseñarnos a ser perseverantes, pacientes, responsables y lo más importante que notaron el cambio presente en nuestra constancia y responsabilidad ante este gran reto que nos deja un aprendizaje para nuestras vidas.

Tabla de contenido

Resumen, 12

Antecedentes teóricos y empíricos, 13

Justificación y planteamiento del problema de investigación, 27

Objetivos, 28

Objetivo General, 28

Objetivos Específicos, 29

Hipótesis, 29

Variables, 30

Variables independientes, 29

Variable dependiente, 29

Método, 31

Diseño, 31

Sujetos, 31

Condiciones laboratorio, 32

Instrumentos, 32

Procedimiento, 35

Fase de Habitación., 36

Fase de entrenamiento., 37

Análisis de resultados., 38

Aspectos Éticos, 39

Resultados, 47

Fase de habituación, 47

Fase de entrenamiento, 56

Discusión, 61

Recomendaciones, 66

Referencias, 68

Apéndices, 77

Lista de tablas

Tabla 1. Categorización de sujetos experimentales, 31

Tabla 2. Parámetros de alimentación en fase de privación, 32

Tabla 3. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para el grupo de datos de habituación, 48

Tabla 4. Prueba de normalidad Shapiro Wilk para el grupo de datos de entrenamiento, 57

Lista de Figuras

Figura 1. Laberinto de Olton (1976)., pp 33

Figura 2. Formato de registro para la fase de habituación. B= Brazo. A= Acicalamiento; I= Inmovilidad; D= Descanso., pp 34

Figura 3. Formato de registro para la fase de entrenamiento., pp 34

Figura 4. Plano de sala de experimentación., pp 35

Figura 5. Promedio del número de entradas a los brazos de machos y hembras durante los días de 1 y 50 de habituación., pp 48

Figura 6. Promedio del número de entradas a los brazos de machos y hembras durante los días de habituación., pp 49

Figura 7. Promedio del número de entradas a los brazos de adultos y jóvenes durante los días de 1 y 50 de habituación., pp 50

Figura 8. Promedio de ingreso a los brazos de adultos y jóvenes durante los días de habituación., pp 50

Figura 9. Porcentaje de machos y hembras que emitieron las conductas registradas durante los días 1 y 50., pp 51

Figura 10. Porcentaje de machos y hembras que se acicalaron durante los días de registro., pp 52

Figura 11. Porcentaje de machos y hembras que descansaron durante los días de registro., pp 52

Figura 12. Porcentaje de machos y hembras que descansaron durante los días de registro., pp 53

Figura 13. Porcentaje de adultos y jóvenes que emitieron las conductas registradas durante los días 1 y 50., pp 54

Figura 14. Porcentaje de adultos y jóvenes que se acicalaron durante los días de registro., pp 54

Figura 15. Porcentaje de adultos y jóvenes que descansaron durante los días de registro., pp 55

Figura 16. Porcentaje de adultos y jóvenes que permanecieron inmóviles durante los días de registro., pp 56

Figura 17. Número de aciertos registrados en el grupo de machos y hembras durante el entrenamiento., pp 58

Figura 18. Número de aciertos en el laberinto por sexo durante las 27 sesiones de entrenamiento., pp 58

Figura 19. Número de aciertos registrados en el grupo de adultos y jóvenes durante el entrenamiento., pp 59

Figura 20. Número de aciertos en el laberinto por edad durante las 27 sesiones de entrenamiento., pp 60

Lista de apéndices

Apéndice A. Tabla 5. Registro de la edad de sujetos experimentales durante la investigación, pp

77

Resumen

La memoria espacial supone un proceso de vital importancia para la supervivencia tanto de los roedores como de otros animales ya que la ejecución exitosa de diversas conductas se basa en el conocimiento óptimo del entorno y la identificación de señales ambientales (Álvarez, 2012; Cabrera, 2009). Se ha encontrado que el reconocimiento espacial difiere según características particulares, como el sexo y la etapa ontogenética (Vicens, et. al., 2003), teniendo los machos jóvenes una adquisición y actuación más veloz y precisa de tareas espaciales (Einon, 1980; Seymoure, Dou & Juraska, 1996). El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el desempeño de 24 ratas Wistar en una tarea de memoria espacial, según las características de sexo y edad (ratas jóvenes y ratas adultas). Para este fin, se llevó a cabo una fase inicial de habituación de 10 minutos diarios en el laberinto radial de Olton, y una fase de entrenamiento de una tarea de memoria espacial durante 27 sesiones. Se encontró en la fase de habituación, que las conductas de acicalamiento y descanso aumentaron en mayor proporción en los machos y jóvenes, y las conductas de inmovilidad tuvieron un mayor declive en estos grupos. En la fase de entrenamiento, se observó un aumento significativo en el desempeño de los sujetos a través de las sesiones, sin embargo, no se observaron diferencias en función del sexo ni de la edad, dado que estas ratas iniciaron la habituación siendo jóvenes y terminaron el entrenamiento como adultas con integridad del hipocampo en este momento del desarrollo ontogenético.

Palabras clave: memoria espacial, hipocampo, laberinto radial, sexo, ontogenia.

Antecedentes Teóricos y Empíricos

En el proceso vital de adaptación al contexto y la supervivencia de las especies, la ejecución exitosa de diversas conductas se basa en el conocimiento óptimo del entorno y la identificación de señales ambientales (Álvarez, 2012; Cabrera, 2009).

Esta identificación de señales se traduce en la detección de alguna novedad, la cual juega un papel muy importante en la adaptación a los cambios ambientales y la evitación de posibles peligros pues el ambiente constituye un entorno variable que exige continuamente cambios en el comportamiento de los animales (Justel & Psyrdellis 2014). Esta plasticidad conductual se constituye como una propiedad de los sistemas biológicos que depende de los cambios externos. En este sentido, el sistema nervioso posee una plasticidad altamente desarrollada y evidente en las primeras etapas del desarrollo que le permite al organismo responder de manera activa y veloz desde cortas edades (Hernández, Aguilar & García, 2015).

El comportamiento responsivo de los animales, y en especial de los roedores difiere en cuanto al sexo y la edad (Carman & Mactutus, 2001), puesto que se ha evidenciado que las hembras presentan niveles altos de congelamiento en comparación a los machos, debido muy posiblemente a que estos últimos son más propensos a seleccionar y dar una respuesta más activa, típica de lucha o huida, mientras que las primeras muestran una respuesta más defensiva y pasiva. Además de esto, diversos autores afirman que la modulación de las respuestas responsivas se asocia con los cambios bioquímicos en las hembras como la mayor producción de estrógenos (Baran, Armstrong, Niren, Hanna, Conrad, 2009; Diehl et al., 2007, citados en Polanco & Vargas, 2011).

Así como las diferencias sexuales juegan un papel importante en las respuestas de los roedores al medio ambiente, los determinantes asociados al desarrollo ontogenético de estos animales se basan en los cambios hormonales y cambios en la estructura cerebral, evidenciándose que las ratas jóvenes responden de manera más activa a los cambios externos que las adultas, puesto que las primeras por la etapa evolutiva en la que se encuentran, permanecen en un estado de alerta mayor (Esmoris, Mendez & Spear, 2008, citados en Polanco & Vargas, 2011). La mayoría de registros de investigación concuerdan con este postulado, a excepción de los estudios realizados por Lynn y Brown (2010), en los que se estudió la conducta de los roedores en campo abierto y en el laberinto elevado en cruz, encontrando una mayor exploración (mayor actividad locomotora) y mayor tiempo en brazos abiertos a medida que aumenta la edad, lo cual evidencia niveles bajos en la exploración de los adolescentes, resultado opuesto a la postura en donde se asumen más riesgos y respuesta a la novedad en la adolescencia, en mayor medida que los adultos.

Influidas por el sexo y la edad, estos comportamientos responsivos ante los cambios del ambiente, presentan un declive importante a lo largo del tiempo, pues cuando los animales son expuestos por primera vez a un ambiente novedoso lo exploran de modo activo y lo comparan con experiencias previas guardadas en su memoria para evaluar su grado de novedad, pero cuando son expuestos por segunda vez a ese ambiente se puede observar un descenso en la exploración que es considerado como un índice de habituación o familiaridad al ambiente (Moncada & Viola, 2006, citado por Justel & Psyrdellis 2014). De esta manera, la habituación es entendida como un tipo de aprendizaje que se da debido a la exposición repetida a un estímulo particular en el que el animal se vuelve menos responsivo hacia el mismo (Mora, et. al., 2017).

Debido a este proceso de identificación y adaptación al entorno, los animales deben usar una determinada estrategia de navegación, ya sea innata o adquirida, que le permita reconocer los

lugares anteriormente visitados y aquellos completamente nuevos con posibilidad de resguardo del alimento y espacios de apareamiento (Rojas, Pérez, Clavijo, García & Gutiérrez, 2011; Aguirre, 2014). Se puede definir la navegación espacial como una conducta compleja orientada a una meta que requiere como mínimo conocer el lugar en el que el animal está y el lugar a donde quiere ir. A esta capacidad de los animales de emplear distintas estrategias de navegación para encontrar un lugar en un entorno previamente visitado se le conoce como aprendizaje espacial (Sancho, 2018). En primer lugar, se denomina aprendizaje dado que es el proceso por medio del cual se adquieren nuevos conocimientos acerca de los eventos del mundo, y en segundo lugar es espacial, puesto que se refiere a los procesos de memoria mediante los cuales retenemos y evocamos dichos conocimientos (Balderas, Ramírez & Bermúdez, 2014). El aprendizaje puede considerarse como una modificación estructural y funcional del sistema nervioso que da como resultado un cambio en la conducta relativamente permanente. La información aprendida es retenida o almacenada en los circuitos neuronales que forman el cerebro y constituye lo que denominamos memoria. La memoria es la consecuencia usual del aprendizaje y difícilmente nos referimos a alguno de estos términos de manera independiente (Hernández, et. al., 2015).

Específicamente, es la memoria espacial la responsable de reconocer, codificar, almacenar y recuperar la información acerca de la disposición de los objetos, rutas específicas, configuraciones y localizaciones espaciales, permitiendo así al organismo desenvolverse espacio-perceptualmente en un entorno (Siancas & Ernesto, 2015; Carvajal, 2006, citado por Ortiz, 2011). Este proceso de percepción, codificación, almacenamiento y recuperación de la información, se relaciona con el órgano central de los animales que es el cerebro, el cual, en el momento de activarse, crea interacciones y relaciones con importantes estructuras anatómicas como el hipocampo (Mollerini,

2013; Torres, Córdoba, Cerón, Amézquita & Bastidas, 2015; Hernández, et. al, 2015; Gallardo, 2018).

El hipocampo, siendo estructuralmente una lámina de corteza curvada en la superficie media y basal del lóbulo temporal (Clark, Boutros & Méndez, 2012; Carasatorre, Ramírez & Cintra, 2016), se constituye como el centro asociativo integrador supramodal, principalmente responsable de la consolidación de los recuerdos (Portellano, 2005 citado por Wirt & Hyman, 2017), lo que le confiere un papel importante en la adquisición del aprendizaje espacial y la consolidación de la memoria a largo y corto plazo (Hernández, et. al., 2015). La memoria a corto plazo tiene la función principal de mantener la información activa mediante el repaso mientras resulte relevante para la tarea actual. El tipo de información con la que trabaja esta memoria es fonológica (similar a la repetición subvocal) y la duración de la información contrasta con la duración de la información en la llamada memoria a largo plazo, ya que esta primera permite mantener la información tan solo unos minutos, mientras que la última forma de almacenamiento permite mantener la información en estado pasivo durante largos períodos de tiempo (Bajo, Fernández & Ruiz, 2016; Norris, 2017).

Cada tipo de procesamiento y de almacenamiento de información depende de la participación de un conjunto de neuronas que forman sistemas especializados (Aguirre, 2014), por ende Kesner & Gilbert (2004) sugieren que no se debe tratar el hipocampo como una entidad única, ya que las diversas funciones asociadas a las diferentes subregiones del hipocampo son bastantes. Una de esas funciones es la codificación de representaciones asociativas, la cual parte de una red distribuida que permite soportar un específico comportamiento espacial, ya que al momento de colocar a un sujeto en una tarea de navegación requiere una buena representación del medio ambiente, particularmente cerca del objetivo, para poder lograr un buen desempeño. (Kubík & Fenton, 2005; Howard, Fotedar, Datey & Hasselmo, 2005).

Este postulado sobre la importancia del reconocimiento espacial en tareas de navegación ha sido ampliamente estudiado en roedores, y confirmándose por los descubrimientos de John O'Keefe y Jonathan Dostrovsky, acerca del mapeo espacial y el primer componente cerebral del sistema de posicionamiento: las células de lugar (Lacadena, 2015; O'Keefe & Dostrovsky, 2014). Las células de lugar constituyen un tipo de células del hipocampo que se activaban cuando el animal está en una localización determinada del ambiente, formando así en el cerebro un mapa del espacio recorrido (Lacadena, 2015). Las relaciones entre la actividad de las células del lugar y resolución de problemas espaciales, indican que la representación del lugar debe ser funcional y a la vez debe permitir un registro con el entorno para que el animal se desempeñe correctamente en tareas espaciales, ayudando a especificar el objetivo general del animal y calcular la ruta requerida para llevar a la rata desde su ubicación actual hasta la meta (Poucet, Lenck, Hok, Save, Banquet, Gaussier & Muller, 2004).

Esta relación entre la actividad de las células de lugar y la resolución de problemas espaciales, se ha evaluado mediante modelos animales en los que la solución de la tarea depende de la información espacial disponible. Actualmente no hay duda de que las ratas son capaces de generar una representación espacial del ambiente que exploran (Ramírez, 2007), teniendo la posibilidad de implementar cuatro formas principales de navegación para la resolución de tareas espaciales: orientación, guía, cartográfica y de integración de la ruta (Santín, Rubio, Begega, Miranda & Arias, 2000, citado en Vicens, et. al., 2003).

En el aprendizaje de orientación los animales basan su búsqueda en movimientos aprendidos durante la ejecución de la tarea; en el aprendizaje de guía aprenden asociaciones entre los estímulos señal y la meta. Estas dos formas de navegación se explicarían mediante paradigmas asociativos de condicionamiento. El aprendizaje cartográfico, sin embargo, implica el uso de señales distales

con las que los animales se forman una representación de su entorno (mapa cognitivo) mediante el cual localizan la meta. Por último, la integración de la ruta consiste en un proceso de actualización de la información cuando las pistas ambientales no ofrecen la suficiente, mediante un sistema interno de referencia basado en el lugar de salida antes de iniciar la navegación, para lo que el animal podría utilizar principalmente pistas cinestésicas y señales vestibulares. (Santín, et. al., 2000, citado en Vicens, et. al., 2003).

Estas diferentes capacidades de aprendizaje surgen a lo largo del desarrollo temprano a medida que maduran los circuitos cerebrales de las ratas, y se modifican a lo largo de la vida incorporando los efectos de la experiencia previa y siendo, algunas de ellas, especialmente sensibles al envejecimiento (Manrique, 2008).

Buzsáki & Moser (2013), además de diversos estudios realizados en la investigación conductual con modelos animales afirman que en el roedor las neuronas hipocampales están en gran sintonía con el procesamiento y la codificación de la información sobre el mundo circundante, por ende, la navegación exitosa a través de una tarea espacial requiere de la actualización constante de las claves contextuales disponibles y del acceso a la información previamente almacenada. Este tipo de investigaciones emplea diversos instrumentos y estrategias que permiten estudiar las características, tanto cognitivas como conductuales del proceso espacial. Entre estos instrumentos destacan los laberintos espaciales (Morellini, 2013), los cuales son una de las alternativas más empleadas para el estudio conductual en roedores y permiten analizar una amplia gama de fenómenos relacionados con la memoria como la conducta exploratoria, el aprendizaje, la discriminación de estímulos, la toma de elección, motivación, ansiedad, locomoción y hasta fenómenos referentes a lesiones cerebrales y efectos de algunas drogas (Castillo, Sánchez & Casasola, 2016; Levin, 2015).

Específicamente, el laberinto radial de 8 brazos inventado por David Olton y posteriormente modificado por sus colaboradores, representa un instrumento ideal para analizar los fenómenos anteriormente mencionados a partir de tareas simples o complejas de elección (Levin, 2015; Vann, 2018). El laberinto consiste en una plataforma central octogonal con brazos radiales idénticos y separados entre sí, en materiales como madera para la plataforma central y vidrio flexible transparente para los brazos radiales, ya que esto permite la identificación de señales distales y proximales en el proceso de reconocimiento espacial (Daniel, 2015).

La forma más común de usar el laberinto radial de 8 brazos, consiste en tareas de elección, basadas en un aprendizaje por refuerzo, es decir, tareas que promueven estrategias de comportamiento optimizadas y maximizadas en los animales, con el fin de obtener una recompensa. Tales estrategias llevan a los animales a sus estados preferidos y les proporcionan soluciones efectivas para superar las dificultades en un entorno determinado (Yamaguchi, Naoki, Ikeda, Tsukada, Nakano, Mori, 2018). El procedimiento básico en la mayoría de los estudios consiste en permitirle al animal acceder a determinados lugares, donde es recompensado, generalmente con alimento ante una previa deprivación, para después de un intervalo de demora, permitirle elegir entre diversas opciones el ingreso al brazo previamente visitado que tiene el reforzador (Mora, et. al., 2017).

Un ejemplo de esta forma de aprendizaje se ve en la primera fase del estudio realizado por Acosta y cols. (2017), quienes evaluaron el impacto de los procesos de reentrenamiento de tareas espaciales en ratas Wistar con lesión hipocampal inducida. Con el fin de generar en las ratas un aprendizaje óptimo de la tarea de memoria espacial antes del procedimiento quirúrgico para el daño adquirido, las investigadoras implementaron un programa de reforzamiento continuo de razón fija, en donde permitían el ingreso de los sujetos a 6 de los 8 brazos, de los cuales 4 se

encontraban reforzados con pellets de sacarosa, cada vez que estos ingresaban a la plataforma central. Se encontró que a medida que transcurrían las sesiones de entrenamiento prequirúrgico, el número de errores de cada grupo de ratas disminuía significativamente, a la vez que el número de aciertos aumentaba.

De esta manera, la ejecución en el laberinto permite evaluar la memoria de trabajo espacial en roedores, los cuales deberían recordar en cada nueva elección los brazos previamente visitados para no cometer un error (Acosta, et. al., 2017). La estrategia de respuesta estaría basada en el aprendizaje previo acerca de la relación entre claves distales del ambiente y cada uno de los brazos del laberinto, lo que permitiría identificar los brazos ya visitados. (Caro & De los Ángeles, 2005).

Mora y cols. (2017) afirman que normalmente se esperaría que los animales muestren una curva de aprendizaje, disminuyendo el número de errores a través de los ensayos y los días, pero puede haber otros factores, como la edad o las condiciones de alojamiento, que pueden mejorar o empeorar este tipo de aprendizaje y parecen afectar el desempeño en la adquisición de la memoria espacial.

Oliveros y Calderón (2018) sostienen que en neurociencia existen modelos animales para el estudio de diferentes fenómenos y que implican cambios en el comportamiento de estos sujetos experimentales, producto de un tratamiento o de la manipulación de alguna variable extraña al organismo, clásicamente son evaluados a través de pruebas conductuales. Estas pruebas, por la complejidad del comportamiento como un fenómeno biológico emergente, se ven influenciadas por un número importante de variables como la luz, hora del día, temperatura, olores, ruido, manipulación, presencia de observadores, pre exposición a otras pruebas, cepa, sexo y edad del animal experimental.

De hecho, la edad y los cambios asociados a la evolución de las características fisiológicas y conductuales a lo largo de la vida del animal, constituye uno de los aspectos cruciales que debe tener en cuenta cada investigador previo a las pruebas conductuales, pues de la misma forma que en el comportamiento humano, existen marcadas diferencias en cada etapa ontogenética de los animales de experimentación, específicamente en roedores (Oliveros y Calderón, 2018). Respecto a los periodos equivalentes a la adolescencia y la adultez en las ratas, diversos autores afirman que los días postnatales 33-60, corresponden al inicio y desarrollo crucial de los periodos de pubertad en las ratas, abarcando, a nivel cerebral, la etapa de vida en la que se producen cambios neuromadurativos importantes, pero en la que se observa poca maduración en algunas estructuras cerebrales, como en el hipocampo (Cadaveira, 2009). Otros estudios demuestran que en las ratas la adolescencia se puede determinar entre los 32 y los 64 días a partir del nacimiento, basándose en cambios de comportamiento y neurales en la pubertad y en el aumento del crecimiento (Enseñat, 2014).

Por otro lado, el periodo perteneciente a la etapa de vida adulta de las ratas, corresponde aproximadamente al 4to mes postnatal, siendo esta la etapa ontogenética de mayor alcance cognitivo pues se encuentra tránsito a la maduración biológica del animal, y por ende al desarrollo integral de los circuitos cerebrales y de estructuras neuroanatómicas importantes en funciones cognitivas como el hipocampo (Hernández, et. al., 2015). Autores como Enseñat (2014), plantean la etapa de inicio adulta desde el 4to mes de edad o justo después de finalizados los 90 días postnatales, en donde se da una proliferación celular en el hipocampo, correspondiendo esta neurogénesis a un modo de plasticidad, que permite adaptarse al entorno y responder a estímulos externos o internos con mayor facilidad, por ejemplo en situaciones donde hay que distinguir entre

dos contextos similares, teniendo por tanto una función importante relacionada con la memoria y el aprendizaje.

Esta proliferación y la supervivencia de dichas células, si bien se ha demostrado a partir de la activación de nuevas neuronas mediante el aprendizaje de tareas dependientes del hipocampo, como el condicionamiento de traza de la respuesta de parpadeo y el aprendizaje espacial en el laberinto, otros autores señalan que el entrenamiento en diferentes tareas conductuales no altera el número de nuevas neuronas en el hipocampo o incluso lo disminuye. Una posible explicación a tales discrepancias sería que el efecto del aprendizaje sobre el número de nuevas neuronas depende de la edad (Nieto & Moreno, 2011).

Estudios asociados a este descubrimiento de neurogénesis señalan que el desarrollo ontogénico en roedores conlleva a cambios en el comportamiento sustanciales, producto del crecimiento y de la maduración encefálica del animal. En contraste con los individuos adultos, los juveniles, pertenecientes a los estadios prepuberal y puberal, muestran disminución de la actividad exploratoria, menor exposición a entornos abiertos y menor desempeño cognitivo (Mora, et. al., 2017). Específicamente se encontró que, en estudios ontogénicos relacionados al comportamiento de las ratas en diferentes baterías de pruebas conductuales, los animales adultos en comparación de los jóvenes, mostraron mayor capacidad cognitiva en relación a la memoria espacial) en cuanto a que obtuvieron un mayor porcentaje de aciertos y por ende un mejor desempeño en los diferentes laberintos implementados en el estudio (Oliveros y Calderón, 2018).

En relación al mismo estudio, se encontró que al observar las conductas exploratorias de los roedores en las diferentes baterías conductuales, los animales adultos mostraron un mayor interés en la exploración del entorno, además de una mayor actividad locomotora, lo cual podría explicarse

a partir del fenómeno de maduración incompleta o la falta de esta, de los circuitos cerebrales durante las primeras semanas de vida de estos animales (Oliveros & Calderón, 2018).

Así pues, se puede constatar que la investigación de orden ontogenético en las primeras etapas del desarrollo de los animales, y en especial de los roedores es verdaderamente amplia, se encuentra relacionada con fenómenos altamente estudiados como el estrés, la ansiedad, depresión y efectos de algunas drogas en el comportamiento y su interacción neurológica, demostrando que la capacidad cognitiva de ratas adolescentes no es óptima, en relación a aquellas adultas, sin embargo, otras investigaciones afirman que en la etapa final del ciclo vital de este roedor, la capacidad y el desarrollo cognitivo óptimo, se ven altamente afectados (Enseñat, 2014).

El déficit cognitivo asociado a la edad es generado por una serie de cambios estructurales que se producen en el envejecimiento normal del cerebro, atribuyéndose esto principalmente al deterioro de la sustancia gris de las estructuras corticales, que se encuentra asociado a la edad, y existen estudios que muestran mayores disminuciones volumétricas en la zona frontal que en la posterior, por lo que existe la teoría de que el deterioro de la sustancia gris se produce en un gradiente anteroposterior (Artero et al., 2004; Raz y Rodríguez, 2006).

La investigación del efecto de la edad en modelos animales en ratas ha demostrado que animales más viejos son menos eficientes en procesos de aprendizaje de tareas de memoria espacial que los animales jóvenes (Pardo, 2017; Mora, et. al., 2017; Sarubbo, 2017). Existe una clara evidencia de que una constelación de cambios en la expresión génica impacta sobre el fenotipo del hipocampo viejo, aspecto ampliamente estudiado en ratas macho. Uno de estos cambios es una reducción dramática de la neurogénesis en la región del Giro Dentado, estructura de la formación hipocampal necesaria para la conexión entre la corteza entorrinal y el mismo hipocampo (Pardo, 2017).

Diferentes estrategias cognitivas relacionadas con la memoria espacial de trabajo mediante el laberinto radial señalan que ratas maduras y jóvenes tienen diferentes estrategias para solucionar tareas, pero específicamente las ratas jóvenes enriquecidas presentan un mejor desempeño en esta tarea, pero también existen factores ambientales que pueden contribuir o prevenir el declive cognitivo asociado típicamente con la edad de los animales maduros, utilizando diferentes estrategias para forrajear y lidiar con situaciones retadoras en comparación con animales jóvenes, los cuales son significativamente más activos los primeros dos días de prueba lo que hace que concluyan la prueba más rápidamente, pero sin una discriminación eficiente sobre cuáles brazos visitar o no. De esta manera, las ratas maduras son más lentas, pero parecen tomar decisiones de manera más precisa. (Mora, et. al., 2017).

Otras estrategias implementadas por las ratas maduras que les permiten resolver tareas espaciales exitosamente, corresponden a la detección de señales distales en el ambiente para reconocer el entorno y tener una mejor ubicación espacial (Morales, 2017). Este sistema de control de mapeo se ha estudiado en diferentes baterías conductuales, señalando que las ratas inmaduras localizan fácilmente una plataforma si es visible o si las señales están próximas esta, sin embargo en presencia de señales distales no tienen un buen desempeño de identificación espacial, en comparación a ratas maduras (Manrique, 2008).

A partir de los estudios anteriores, se determina que el desarrollo ontológico del organismo animal, influye de manera determinante en los procesos de recepción, procesamiento, almacenamiento y recuperación de la información relacionada al entorno y a la ubicación espacial del sujeto en este.

Ahora bien, el proceso de aprendizaje espacial, específicamente el proceso inicial de reconocimiento difiere de otras características particulares en relación a la morfología sexual

(Vicens, et. al., 2003; Pardo, 2017), encontrándose estudios que determinan diferencias neuroquímicas del hipocampo en el proceso de memoria (Peña, 2007). Kolb y cols. (2001, citados por García & Conde, 2003) realizaron un estudio frente a los procesos cognitivos sexodimorficos en diversas tareas de orientación, encontrando diferencias cualitativas de sexo en la arborización dendrítica de la corteza cerebral de las ratas, lo cual les permitió constatar que los machos muestran una ventaja sobre las hembras, ya que en este primer grupo de sujetos, la producción y conexión dendrítica es mayor puesto que estas ratas son más sensibles a la modificación neuroquímica frente a cambios ambientales, en comparación con la hembras, quienes tienen una menor capacidad sensible a estos cambios, y por ende una menor actividad conectiva en el campo dendrítico.

Investigaciones en el campo de los efectos del estrés, sugieren que el comportamiento de las hembras en diversas tareas espaciales es más vulnerable al estrés medio crónico que los machos, específicamente al inicio de la tarea se encontró una mayor disminución de aquellos comportamientos exploratorios en las hembras que en los machos, además de un notorio cambio en la actividad serotoninérgica en el hipocampo, junto con una elevación de los niveles de corticosterona basales. Estas alteraciones bioquímicas no se observaron en los machos, lo que influyó en una estrategias de afrontamiento de la tarea más activa (Moreno, Lamprea, Dueñas, 2009).

Estudios con resonancia magnética en modelos experimentales muestran que el hipocampo es más grande en machos que en hembras en proporción al tamaño del cerebro, además se evidenció que el volumen de la región CA1, la cual constituye un área crucial en el proceso de mantenimiento de la información y en la transmisión de señales de valor en el comportamiento de forrajeo (Jeong, Huh, Lee, Yun, Lee, Lee & Jung, 2018) es mayor en machos en comparación al volumen de esta región en las hembras. Por otro lado, se evidencio que el número de células piramidales que

contiene la estructura hipocampal es más denso en machos que en hembras, así como también la densidad de neuronas en el giro dentado (Gámez, Hidalgo, Vázquez, Sámano, Reyes, Acevedo & Bucio, 2009).

Estas evidencias del cambio neuroquímico entre hembras y machos, permiten dar un sustento fisiológico y estructural de las diferencias comportamentales de las ratas en tareas de memoria espacial, en donde las ratas macho suelen aprender más deprisa y tener una actuación más precisa en este tipo de tareas, que las hembras (Vicens, et. al., 2003; Pardo, 2017).

Justificación

La presente investigación nos permite corroborar que la memoria espacial supone un proceso de vital importancia para la supervivencia tanto de los roedores como de otros animales (Álvarez, 2012; Cabrera, 2009), ya que es la responsable de reconocer, codificar, almacenar y recuperar la información acerca de la disposición de los objetos, rutas específicas, configuraciones y localizaciones espaciales, permitiendo así al organismo desenvolverse en un entorno (Siancas & Ernesto, 2015; Carvajal, 2006, citado por Ortiz, 2011).

La memoria y el aprendizaje espacial se han evaluado en diferentes investigaciones señalando que la ejecución en el laberinto radial permite evaluar estos procesos en roedores, los cuales deberían recordar en cada nueva elección los brazos previamente visitados para no cometer un error (Acosta, Cantor, Patiño & García, 2017).

De esta manera, la presente investigación podría llegar a generar un impacto a nivel educativo, ya que hace parte de un proceso formativo y práctico de los conocimientos adquiridos a lo largo de la carrera de Psicología y concibe e impulsa el desarrollo de investigaciones similares que permitirían actualizar el conocimiento científico en nuevos experimentos, protocolos para el desarrollo y avance de procedimientos dentro del bioterio de la universidad.

La investigación sobre aprendizaje y memoria en modelos animales tiene repercusiones en el ámbito científico debido a que es una investigación cuasiexperimental, diseño con grupos no equivalentes (Ato, López y Benavente, 2013). La presente investigación busca identificar efectos de la edad y el sexo sobre la memoria espacial de ratas Wistar, puesto que estudios previos han encontrado que el reconocimiento espacial difiere según características particulares, como el sexo y la etapa ontogenética (Vicens, et. al., 2003).

A nivel social se podría llegar a generar un impacto con la posible implementación de un protocolo de entrenamiento de roedores analizando diversas variables morfológicas y biológicas sobre el proceso de memoria espacial. La creación de estos protocolos puede ser una herramienta para el desarrollo de competencias intelectuales y participativas así como habilidades en investigación básica en estudiantes de psicología.

Para concluir, en la investigación realizada se tuvieron y aplicaron las normas de ética y de experimentación teniendo siempre como objetivo el bienestar, el cuidado y las adecuadas condiciones para trabajar con estos biomodelos.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar el efecto del sexo y la edad sobre el desempeño de 24 ratas Wistar en una tarea de memoria espacial en el laberinto radial de 8 brazos.

Objetivos Específicos

Evaluar si ratas Wistar machos y hembras tienen un desempeño diferente en el laberinto radial de ocho brazos.

Evaluar si ratas Wistar jóvenes y adultas tienen un desempeño diferente en el laberinto radial de ocho brazos.

Registrar las diferencias en el comportamiento de ratas Wistar durante las fases de habituación y entrenamiento en el laberinto radial de ocho brazos.

Hipótesis

H₁: El desempeño de machos es mejor que el de las hembras en la tarea espacial durante las fases de habituación y entrenamiento.

H₂: El número de entradas en la fase de habituación a la tarea de memoria espacial disminuye a medida que aumentan los ensayos.

H₃: El número de aciertos en la fase de entrenamiento aumenta a lo largo de los días.

H₄: El desempeño de las ratas jóvenes es mejor que el de las adultas en la tarea espacial durante la habituación y el entrenamiento.

Variables

Variables independientes

Se registraron el Sexo y la Edad.

Variable dependiente

Durante la habituación se registró el número de entradas a los brazos y durante el entrenamiento el número de aciertos, es decir, el número de veces que la rata elige el brazo con el reforzador.

Método

Diseño y tipo de investigación

La investigación fue un estudio de tipo cuasiexperimental, con un diseño 2 x 2 x 27 (Sexo x Edad x Días), catalogándose como un diseño postprueba sin grupo control, con el fin de observar los efectos del Sexo y la Edad en el número de aciertos registrados durante los 27 días de entrenamiento en la tarea del laberinto radial de Olton (Ato, et. al., 2013).

Sujetos

Se obtuvieron 24 ratas de cepa Wistar en el bioterio de la Facultad de Psicología de la Universidad Católica de Colombia, con nacimientos en las siguientes fechas (2 camadas). Ingresaron 5 hembras al bioterio y de estas, las hembras 1 y 4 se cruzaron con el macho para dar origen a 2 camadas el 22/02/2018 y 2 más el 21/03/2018:

Tabla 1. *Categorización de sujetos experimentales*

| | Llegada al laboratorio | 22/ 02/ 2018 | 21/ 03/ 2018 |
|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| Número asignado a cada rata | 1,3,4,5,6 | 9,10,11,12,13,14,15, 16,17,18,19 | 20,21,22,24,25,2 6,27,28 |
| Número de machos y hembras | Hembras=5 | Machos=6 Hembras=5 | Machos=8 |

Condiciones del laboratorio

Se mantuvo un ciclo de luz oscuridad aleatorio, en el que se encendía la luz al entrar al bioterio y al terminar con la experimentación se apagaba. La comida que se les suministró a los sujetos fue concentrado de Dog Chow para perros en platos metálicos, todos los sujetos tuvieron una privación de alimento del 80% de su peso inicial, de acuerdo con la siguiente tabla:

Tabla 2. *Parámetros de alimentación en fase de privación*

| |
|--------------------|
| Peso rata = comida |
| < 250 gr = 20 gr |
| = 250 gr = 15 gr |
| > 260 gr = 8 gr |

Se les suministró agua no filtrada *ad libitum*. La temperatura del bioterio se mantuvo en 25°, con recambio de aire, evitando cualquier tipo de fluctuaciones. Las jaulas hogar usadas fueron cajas metálicas provistas de tapas de acero inoxidable con rejilla superior en 2 tamaños: grandes con 45 cm de largo x 35 cm de ancho y 18 cm de alto, medianas con 45 cm de largo x 27 cm de ancho y 12 cm de alto y cajas transportadoras metálicas con 31 cm de largo x 20 cm de ancho y 12 cm de alto.

Instrumentos

Se utilizó un laberinto radial (Daniel, 2015) compuesto por ocho brazos iguales de 70 cm x 7.5 cm x 11 cm, unidos a una plataforma central con un diámetro de 30 cm. Para el procedimiento se utilizaron 2 laberintos iguales contiguos en la misma habitación. Para la

limpieza del laberinto posterior a cada ensayo de las ratas se utilizaron alcohol y papel higiénico.

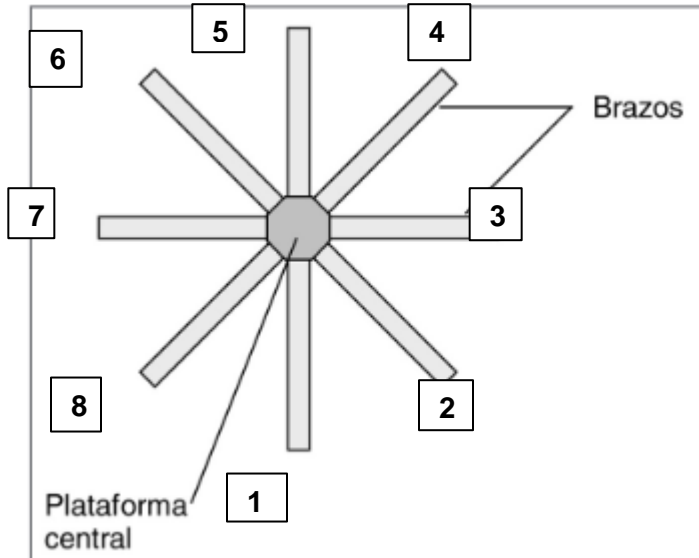


Figura 1. Tomado de Olton (1976).

En la fase de entrenamiento se utilizaron tapas de metal para colocar la bolita de azúcar al final de los brazos reforzados. Se crearon dos formatos de registro diario del comportamiento de la rata para las fases de habituación y entrenamiento (véase Figuras 2 y 3):

Procedimiento

Con el fin de lograr el objetivo de la investigación, el procedimiento se realizó en 3 fases: habituación, entrenamiento y análisis de resultados.

Previo al inicio de cada sesión de trabajo, los experimentadores cumplieron con las condiciones de bioseguridad y de sanitización del ambiente de experimentación, siempre bajo las directrices del protocolo del manual de procedimientos experimentales del comportamiento en ratas Wistar.

1. El ingreso a la sala de experimentación es permitido con uso de bata, guantes, tapabocas y gorro puestos con antelación, con el fin de evitar contaminación en el espacio de trabajo
2. Se debe limpiar la sala recogiendo y lavando la suciedad del piso con los implementos de aseo dispuestos para tal fin.
3. Se deben colocar los objetos del laboratorio siempre con la misma distribución de la figura 4

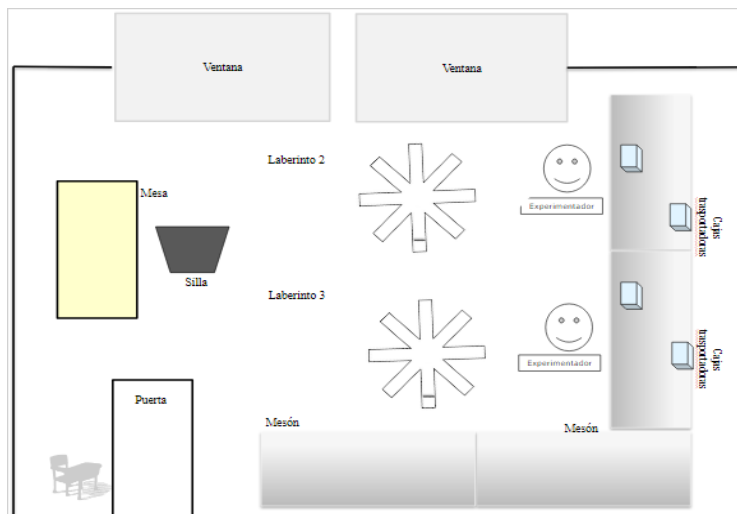


Figura 4. Plano de sala de experimentación.

4. Durante las sesiones de trabajo, permanecerán exclusivamente los experimentadores, quienes evitarán en gran medida generar distracciones visuales o auditivas a los sujetos.

El procedimiento se dividió en 2 fases llamadas Habitación y Entrenamiento.

Fase de Habitación.

Cada sesión inició con el transporte de los animales a la sala de experimentación. Se llevó a cabo de lunes a viernes de 1:00 p.m. a 6:00 pm y sábados de 7:00 am a 1:00 pm.

El ensayo inició colocando la rata en la plataforma central del laberinto en dirección al brazo 1, dejándole explorar durante 10 minutos. Se registró cada entrada a los brazos además de la presentación de conductas como acicalarse, estar inmóvil pero alerta y dormir en el laberinto. De esta forma, las variables fueron: número de entradas a los brazos, acicalamiento, inmovilidad y descanso:

Acicalamiento: Se cataloga como acicalamiento cada vez que el animal sacude sus patas sobre su cuerpo como si se estuviera limpiando. (Dueñas, 2012). También se toma como movimiento de aseo por frotación de las partes de su cuerpo con la lengua o la región superior del hocico (Palacios & Pimienta, 2008).

Inmovilidad (congelamiento): La respuesta de inmovilización se define como la ausencia de movimiento, excepto el necesario para respirar. En muchas especies el congelamiento es la respuesta inicial a un peligro, ya que prepara al animal para luchar o huir en caso de ser atacado o reduce la probabilidad de ser detectado por un posible depredador (Polanco y Vargas, 2011).

Descanso: Descansar puede definirse como el tiempo en segundos en el que la rata permanece inactiva con la cabeza en el piso. (Alonso, Santos, Díaz, Domingo & Pérez, 2013).

Como criterio de finalización se tomó que las ratas más jóvenes alcanzaran la edad de 3 meses, por lo tanto, se llevaron a cabo 50 sesiones.

Fase de entrenamiento.

Al igual que en la habitación, cada sesión inició con el transporte de los animales a la sala de experimentación. Se llevó a cabo de lunes a viernes de 1:00 p.m. a 6:00 pm y sábados de 7:00 am a 1:00 pm.

Se seleccionaron los brazos 2, 4 y 7 para ser reforzados con una bola hecha de agua y azúcar de 1 gr cada una; se colocaron en un recipiente de metal al final de los brazos. La sesión inició colocando la rata en la plataforma central del laberinto en dirección al brazo 1, dejándole explorar los brazos libremente. Se registraron todas las entradas a los brazos y se tomó como acierto si el sujeto ingresó a alguno de los brazos reforzados independiente de si consumió el reforzador o no. Se registró como error el entrar a los brazos no reforzados. Se retiró al sujeto del laberinto y se llevó a la caja transportadora metálica, mientras se colocaba el reforzador de nuevo en el recipiente y se limpiaba el brazo eliminando heces y orina para colocar al siguiente sujeto. El sujeto era colocado nuevamente en la plataforma central mirando el brazo 1. La sesión terminaba cuando el sujeto completaba 10 entradas.

El entrenamiento se realizó hasta alcanzar 3 días sin diferencias intrasujeto, por lo tanto, se alcanzaron 27 días lo que corresponde a 270 ensayos.

Análisis de resultados.

Para analizar los datos de esta investigación, tanto de la fase de habituación como de entrenamiento, se organizaron los resultados obtenidos en el laberinto radial de Olton teniendo en cuenta las variables de sexo y edad. El registro de las conductas se hizo diariamente, pero para la representación y análisis de los datos de la habituación, se representaron únicamente los días 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 y 50. Para la representación y el análisis de la fase de entrenamiento se representaron los datos obtenidos en los días 1, 5, 10, 15, 20, 25, 26 y 27.

Se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk con el fin de determinar si cada grupo de datos cumplían un criterio de normalidad o no. Para la aplicación de la prueba de normalidad, se planteó como hipótesis nula (H_0) que los datos no provienen de una población con distribución normal y como hipótesis alterna (H_a), se planteó que los datos provienen de una población con distribución normal (Álvarez, 1995). Dado el caso de que los datos presentaran una distribución no normal se implementaría la prueba de Wilcoxon y/o U de Mann – Whitney con prueba de hipótesis, dependiendo del análisis deseado. En caso contrario, que los datos siguieran una distribución normal, se implementaría la prueba t-student en prueba de hipótesis para la diferencia de medias

Cabe mencionar, que los datos utilizados en toda la prueba fueron analizados a partir del paquete estadístico IBM - SPSS versión 12.0 para Windows.

Análisis de datos en fase de habituación.

Posterior al análisis de normalidad de los datos correspondientes a la fase de habituación, se organizaron los datos para un análisis intrasujeto y entregupo $2 \times 2 \times 50$ (*sexo* \times *edad* \times

número de días), comparando el número de entradas a los brazos en cada día frente a las variables mencionadas.

Para el análisis intrasujeto de la fase de habituación, se comparan los días de registro de entradas en cada grupo de sujetos; y, por otro lado, para el análisis estadístico entregupo, se compara el número de entradas entre machos y hembras; y entre ratas jóvenes y adultas.

Análisis de datos en fase de entrenamiento.

Posterior al análisis de normalidad de los datos correspondientes a la fase de entrenamiento se organizaron los datos para un análisis intrasujeto y entregupo $2 \times 2 \times 27$ (*sexo* \times *edad* \times *sesión*), comparando el número de aciertos de cada sesión frente a las variables mencionadas.

Para el análisis intrasujeto de la fase de entrenamiento, se compara el número de aciertos entre las 27 sesiones; y, por otro lado, para el análisis estadístico entregupo, se compara el número de aciertos entre machos y hembras; y entre ratas jóvenes y adultas.

Aspectos Éticos

Según la ley 1090 del 2006 por el cual se reglamenta el ejercicio de la profesión de psicología, se dicta el código deontológico y bioético y otras disposiciones. En la presente investigación se tuvieron en cuenta las disposiciones regladas en el Artículo 53 relacionado con el uso de animales:

Artículo 53. Los profesionales de Psicología que utilicen animales para sus trabajos investigativos o demostrativos conocerán previamente y pondrán en práctica los principios básicos definidos por la Unesco y la APA para guiar éticamente la investigación con animales, y además estarán obligados a: a) Minimizar el dolor, el trauma, los riesgos de

infección, el malestar de los animales, los métodos aversivos; b) Usar anestesia y analgésicos para tratamientos experimentales que lo requieran; c) Que los animales seleccionados para la investigación deban ser de una especie y calidad apropiadas y utilizar el mínimo número requerido para obtener resultados científicamente válidos.

En Colombia, hay dos normas generales en donde se menciona la reglamentación en el uso de animales. La Ley 84 de 1989 contiene el capítulo VI titulado: "Del uso de animales vivos en experimentos e investigación" (República de Colombia, Ley 84 de 1989). En este aparte se hacen recomendaciones sobre el manejo de los animales, se combinan disposiciones y prohibiciones para animales de granja, de compañía y de laboratorio.

La Resolución 008430 de 1993, en el Título V, menciona la investigación biomédica en animales, pero no va más allá de la Ley 84 de 1989. Aunque se tratan con mayor detalle las circunstancias en las cuales pueden o no usarse los animales, las disposiciones sobre el manejo, alojamiento, infraestructura son igualmente pobres. (Botero y Gómez, 2013). Esta resolución plantea que:

ARTICULO 87: En toda investigación en la que los animales sean sujeto de estudio deberán tenerse en cuenta, además de las disposiciones determinadas en la Ley 84 de 1989, las siguientes:

- a. Siempre que sean apropiados, deben usarse métodos tales como modelos matemático, simulación en computador y sistemas biológicos in vitro.
- b. La experimentación en animales solamente se debe realizar después de estudiar su importancia para la salud humana o animal y para el avance del conocimiento biológico.

c. Los animales seleccionados para la experimentación deben ser de una especie y calidad apropiada, y utilizar el mínimo número requerido para obtener resultados científicamente válidos.

d. Solamente se emplearán animales adquiridos legalmente y se mantendrán en condiciones adecuadas y que cumplan con las reglamentaciones sanitarias vigentes.

e. Los investigadores y demás personal nunca deben dejar de tratar a los animales como seres sensibles y deben considerar como un imperativo ético el cuidado y uso apropiado y evitar o minimizar el discomfort, la angustia y el dolor.

Los investigadores deben presumir, qué procedimientos que causarían dolor en seres humanos también causen dolor en otras especies vertebradas, aún cuando todavía falta mucho por saber sobre la percepción del dolor en los animales.

f. La eutanasia de los animales se efectuará con anestésicos apropiados, aprobados por la asociación veterinaria.

g. Todo procedimiento, que pueda causar en los animales más que un dolor o una angustia momentánea o mínima, debe ser realizado con sedación, analgesia o anestesia apropiada y conforme con la práctica veterinaria aceptada. No se deben realizar procedimientos quirúrgicos o dolorosos en animales no anestesiados, paralizados por agentes químicos.

h. Cuando se requiera apartarse de lo establecido en el inciso anterior, la decisión no debe ser tomada solamente por el investigador directamente involucrado, sino que debe ser tomada por el Comité de Ética, establecido por la ley 84 de 1989. Estas excepciones no deben hacerse solamente con fines de demostración o enseñanza.

- i. Al final del experimento, o cuando sea apropiado durante el mismo, los animales que puedan sufrir dolor crónico o severo, angustia, disconfort o invalidez que no pueda ser mitigada, deben ser sacrificados sin dolor.
- j. Los animales mantenidos con propósitos biomédicos deben tenerse en las mejores condiciones de vida, de ser posible bajo la supervisión de veterinarios con experiencia en animales de laboratorio. En todo caso se debe disponer de cuidado veterinario cuando sea requerido.
- k. El director del instituto, departamento o unidad donde se usen animales es el responsable de asegurar que los investigadores y demás personal tengan calificación apropiada o experiencia para realizar procedimientos en animales. Debe proporcionar oportunidades adecuadas de entrenamiento en servicio que incluya la preocupación por un trato humano y apropiado para con los animales que están bajo su cuidado.

ARTICULO 88. El uso de animales en la investigación, enseñanza y ensayos es aceptado solamente cuando promete contribuir a la comprensión y avance del conocimiento de los principios fundamentales biológicos o al desarrollo de mejores medios para la protección de la salud y el bienestar tanto del hombre como del animal.

ARTICULO 89. Los animales deben ser utilizados, en caso que el investigador haya descartado otras alternativas, para tal fin se sigue el principio de Russell Burch "3R", remplazo, reducción y refinamiento.

ARTICULO 90. Los bioterios deberán estar de acuerdo con la especie, conformación corporal, hábitos, preferencias posturales y características locomotoras de los animales,

para proporcionarles comodidad, excepto cuando las variables experimentales justifiquen otras situaciones.

ARTICULO 91. Los bioterios de producción o mantenimiento crónico serán supervisados por el personal profesional calificado y competente en la materia y deberán permitir el crecimiento, maduración, reproducción y comportamiento normal de los animales, de conformidad con las normas que la propia institución emita.

ARTICULO 92. El director de la institución donde se realice investigación en animales, deberá establecer y vigilar el cumplimiento de las medidas de seguridad para el cuidado y manejo de los animales, así como las medidas de profilaxis y vacunación necesarias para la protección del personal ocupacionalmente expuesto.

ARTICULO 93. El director de la institución donde se realice investigación en animales, deberá vigilar, ordenar o ejecutar, se tengan en cuenta las siguientes medidas de seguridad, según el caso:

- a. Aislamiento.
- b. La cuarentena.
- c. La observación personal.
- d. La vacunación de personas.
- e. La vacunación de animales, en cuanto esté referida a la salud humana.
- f. La destrucción o control de insectos y otra fauna, transmisora y nociva, en cuanto esté referida a la salud humana.
- g. La suspensión de trabajos o servicios.

- h. El aseguramiento y destrucción de objetos o productos o sustancias.
- i. Desalojo de casas, edificios, establecimientos y en general de cualquier predio.
- j. La prohibición del uso de ciertas especies, y
- k. Las demás de índole sanitaria que determine este Ministerio o entidad competente de su nivel, que puedan evitar que se causen o continúen causando riesgos o daños a la salud.

En otros países suramericanos se ha avanzado mucho en la normatividad para el uso de animales en investigación y docencia lo cual sirve como referencia para nuestro país; tal es el caso de Uruguay en donde la Ley N° 18.611 sobre Utilización de Animales en Actividades de Experimentación, Docencia e Investigación Científica plantea en el Capítulo IV sobre las Condiciones de Cría y Uso de Animales para Enseñanza e Investigación Científica que:

Artículo 12.- La cría, la utilización y el transporte de animales para experimentación, docencia e investigación quedan reservados, exclusivamente, a las instituciones registradas ante la CNEA.

Artículo 13.- Toda institución que críe, utilice o transporte animales para experimentación, docencia e investigación debe registrarse ante la CNEA. También deberá estar registrada toda persona que trabaje con animales en las mismas.

Artículo 14.- El animal solamente podrá ser sometido a las intervenciones recomendadas en los protocolos de experimentación, docencia e investigación cuando antes, durante y después del experimento, recibiera los cuidados especiales, conforme a lo establecido por la CNEA.

Se entiende por experimento a los procedimientos efectuados en animales vivos, buscando la elucidación de fenómenos fisiológicos o patológicos, mediante técnicas específicas y pre-establecidas; y por muerte por medios humanitarios o eutanasia, a la muerte de un animal en condiciones (diferentes según las especies) que involucren un mínimo de sufrimiento.

Artículo 15.- Los experimentos que puedan causar dolor o distrés deberán desarrollarse bajo sedación, analgesia o anestesia adecuadas, salvo cuando su objetivo lo impida, en cuyo caso deberá ser debidamente justificado.

Queda vedado el uso de bloqueantes neuromusculares o de relajantes musculares en sustitución de sustancias sedantes, analgésicas o anestésicas.

Queda vedada la reutilización del mismo animal después de alcanzado el objetivo principal del proyecto de investigación salvo excepciones debidamente fundadas.

El animal será sometido a eutanasia, bajo estricta obediencia de las prescripciones pertinentes a cada especie, conforme a las directrices de la CNEA, siempre que, culminado el experimento o en cualquiera de sus fases, fuera técnicamente recomendado aquel procedimiento o cuando ocurriera intenso sufrimiento.

Artículo 16.- En programas de docencia:

A) Siempre que sea posible, las prácticas docentes deberán ser fotografiadas, filmadas o grabadas, de forma de permitir su reproducción para ilustración de prácticas futuras, evitándose la repetición innecesaria de procedimientos didácticos con el empleo directo de animales.

B) Siempre que fuesen empleados procedimientos traumáticos, varios procedimientos podrán ser realizados en un mismo animal, considerando que todos sean ejecutados durante la vigencia de un único anestésico y que el animal sea sacrificado antes de recobrar la conciencia.

Artículo 17.- El número de animales a ser utilizados para la ejecución de un proyecto de experimentación, docencia o investigación y el tiempo de duración de cada experimento será el mínimo indispensable para producir un resultado concluyente.

Resultados

Fase de habituación

Los resultados de la prueba de normalidad Shapiro-Wilk para los datos correspondientes a la fase de habituación, específicamente para los datos de número de entradas a los brazos y frecuencia de las conductas observadas (acicalamiento, descanso e inmovilidad) en la fase de habituación en el laberinto radial de Olton, se muestran en la tabla 1. El análisis de normalidad reveló que los datos correspondientes al número de entradas a los brazos no siguieron una distribución normal ($p > 0.05$; $W = 0.075$, $gl = 264$), por ende, se usaron las pruebas no paramétricas Wilcoxon y U-Mann Whitney para el análisis de este grupo de datos.

Se comprobó que los datos correspondientes a las conductas de acicalamiento, descanso e inmovilidad siguieron una distribución normal ($W = .000$, $p > .05$), por ende, se usó la prueba paramétrica t-student para este grupo de datos.

Tabla 3. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para el grupo de datos de habituación

| | Shapiro-Wilk | | |
|--|--------------|-----|-------|
| | Estadístico | gl | Sig.* |
| Número de entradas fase habituación | .973 | 264 | .075 |
| Frecuencia de conductas de acicalamiento | .616 | 24 | .000 |
| Frecuencia de conductas de freezing | .393 | 24 | .000 |
| Frecuencia de inactividad | .598 | 24 | .000 |

Nota: gl= Grado de libertad; Sig.= valor de significancia. * $p < .05$

La figura 5, representa el número de entradas en el día 1 y 50 de registro del grupo de machos y hembras. El análisis intrasujeto del número de entradas (Wilcoxon), relevó que hubo diferencias significativas entre los días 1 y 50 de registro, tanto en el grupo de los machos ($Z = .001, p < .01$), como en el grupo de las hembras ($Z = .005, p < .01$).

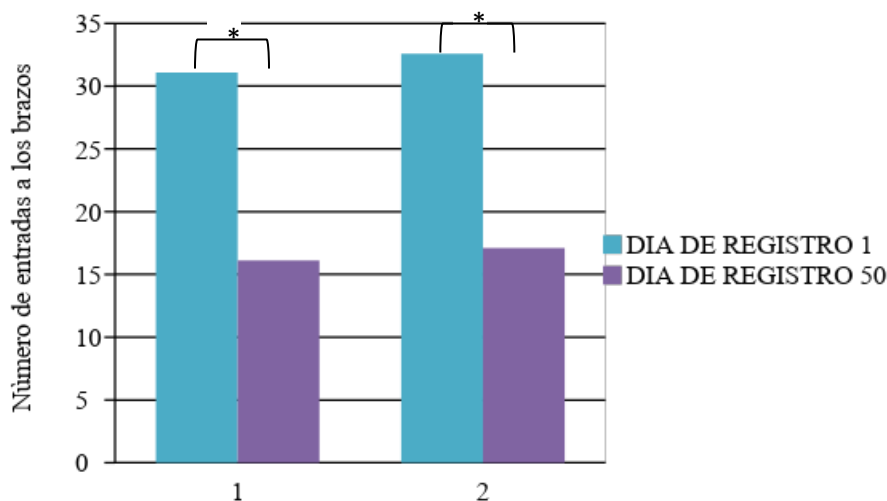


Figura 5. Promedio del número de entradas a los brazos de machos y hembras durante los días de 1 y 50 de habituación. * $p < .01$

El promedio del número de entradas, tanto de machos como de hembras desde el día 1 hasta el día 50 de registro (Factor sexo) se muestra en la figura 6. Al realizar el análisis entregupo (U de Mann-Whitney) se encontró que no hubo diferencias significativas entre machos y hembras respecto al número de entradas a los brazos ($Z = .186, p > .05$).

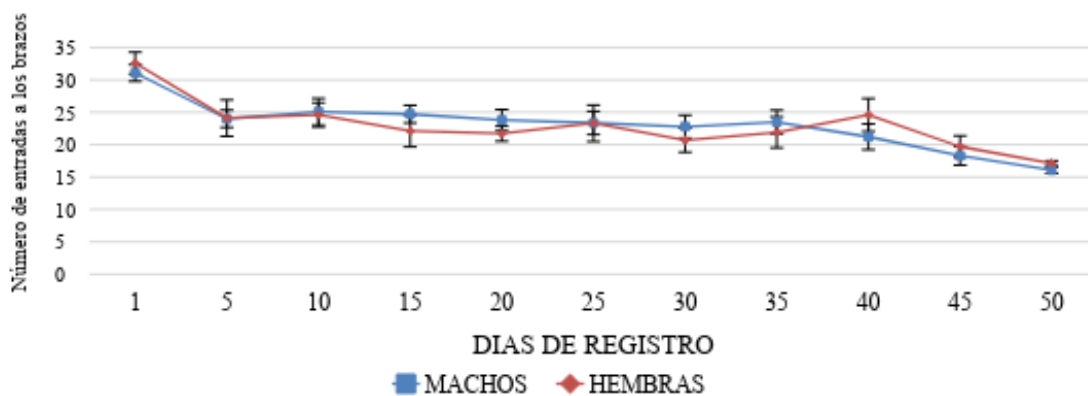


Figura 6. Promedio del número de entradas a los brazos de machos y hembras durante los días de habituación.

La figura 7 compara el promedio de entradas, tanto de adultos como de jóvenes en los días de registro 1 y 50. Respecto al análisis intrasujeto en los dos grupos de edad (Wilcoxon), se encontró que hubo diferencias significativas entre el día de registro 1 y el día de registro 50, tanto en el grupo de los adultos ($Z = .043, p < .05$), como en el grupo de los jóvenes ($Z = .000, p < .05$).

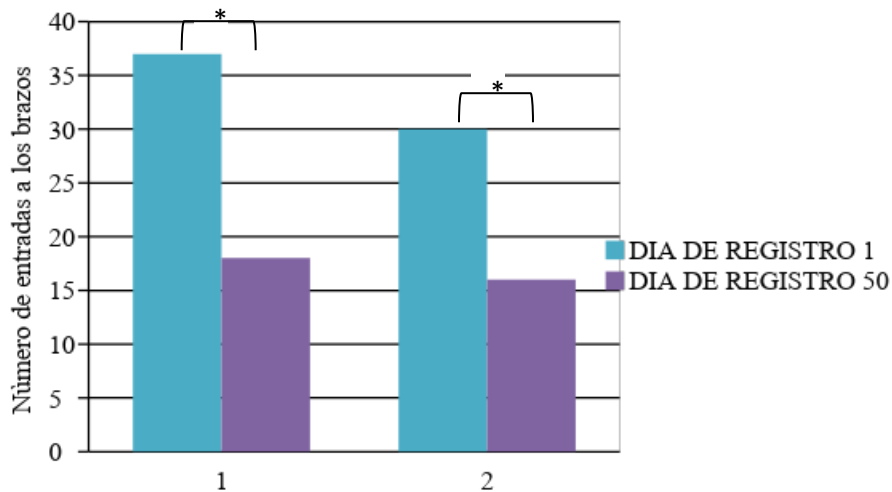


Figura 7. Promedio del número de entradas a los brazos de adultos y jóvenes durante los días de 1 y 50 de habituación. * $p < .05$

En el análisis entregupo del número de entradas, tanto de adultos como de jóvenes desde el día de registro 1 hasta el 50 (véase figura 8), se observó que a pesar de las diferencias en los días 1 ($Z = .013, p < .05$) y 25 ($Z = .027, p < .05$), el promedio del número de ingresos a los brazos no fue significativamente diferente entre las ratas adultas y jóvenes ($Z = .106, p > .05$). Se observaron diferencias marginalmente significativas los días 15 ($Z = .0583, p < .06$) y 35 ($Z = .057, p < .06$).

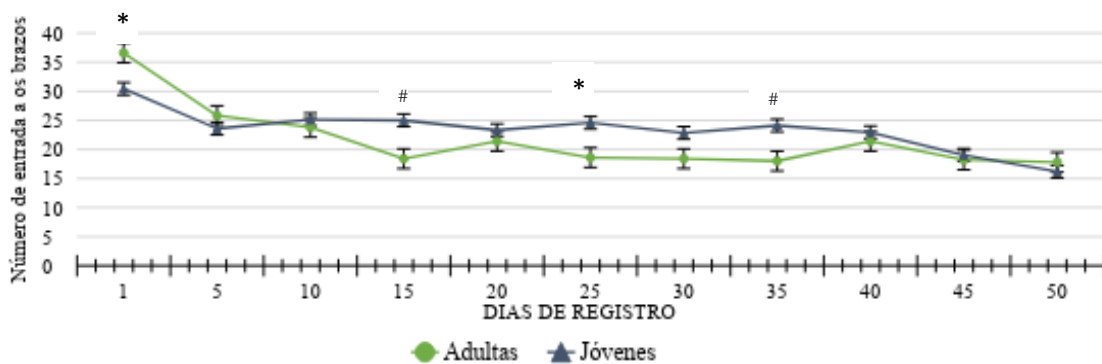


Figura 8. Promedio de ingreso a los brazos de adultos y jóvenes durante los días de habituación. * $p < .05$; # $p < 0,06$.

En cuanto a las conductas registradas en la fase de habituación, la figura 9 representa la comparación del porcentaje de sujetos que emitieron conductas de acicalamiento (A), descanso (B) e inmovilidad (C) en los días 1 y 50 de registro. Se evidenció un aumento de la conducta de acicalamiento tanto en los machos ($t= .045, p < .05$), como en las hembras ($t= .044, p < .05$). En cuanto al descanso, aumento en los machos ($t= .019, p < .05$), y apareció la conducta en las hembras ($t= .015, p < .05$). Por el contrario, se evidenció una disminución de la inmovilidad durante los días de registro mencionados, mostrándose una desaparición de la conducta en el grupo de los machos ($t= .045, p < .05$) y una reducción significativa en el grupo de las hembras ($t= .015, p < .05$).

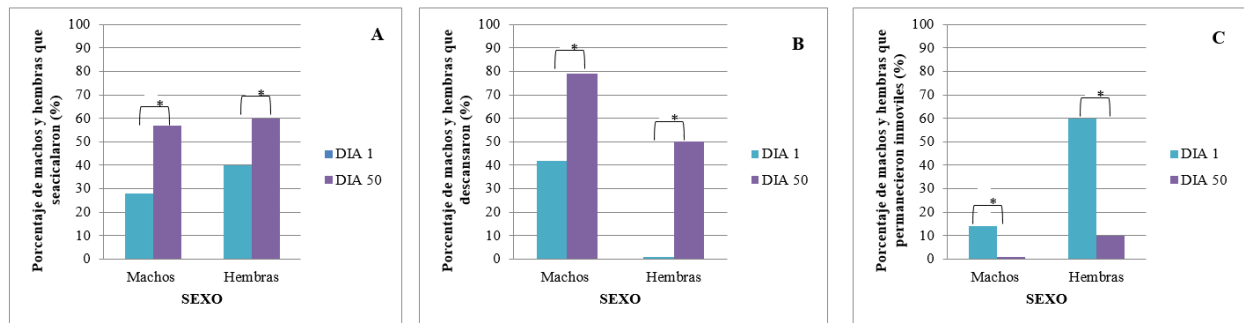


Figura 9. Porcentaje de machos y hembras que emitieron las conductas de acicalamiento (A), descanso (B) e inmovilidad (C) durante los días 1 y 50. * $p < .05$

En el análisis entregupo de la conducta de acicalamiento representado en la figura 10, se muestra que se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras ($t= .000, < .05$), principalmente en los días 15 ($t= .043, < .05$), 35 ($t= .007, < .05$), 40 ($t= .011, < .05$) y 45 ($t= .000, < .05$). Además, se encontraron diferencias marginalmente significativas en los días 5 ($t= .055, < .06$) y 30 ($t= .055, < .06$) de habituación entre machos y hembras.

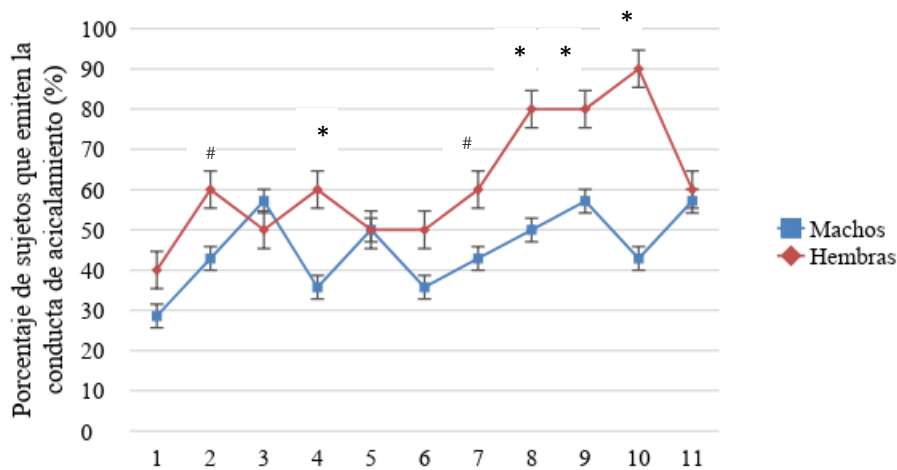


Figura 10. Porcentaje de machos y hembras que se acicalaron durante los días de registro. * $p < .05$, # $p < 0,06$

La figura 11, muestra la comparación del porcentaje de sujetos que realizan la conducta de descanso entre machos y hembras. En este análisis entregrupo, a pesar de encontrarse diferencias en el día 1 ($t = .004$, $< .05$) y 30 ($t = .040$, $< .05$), el porcentaje de sujetos que descansaron no fue significativamente diferente entre machos y hembras ($t = .162$, $p > .05$)

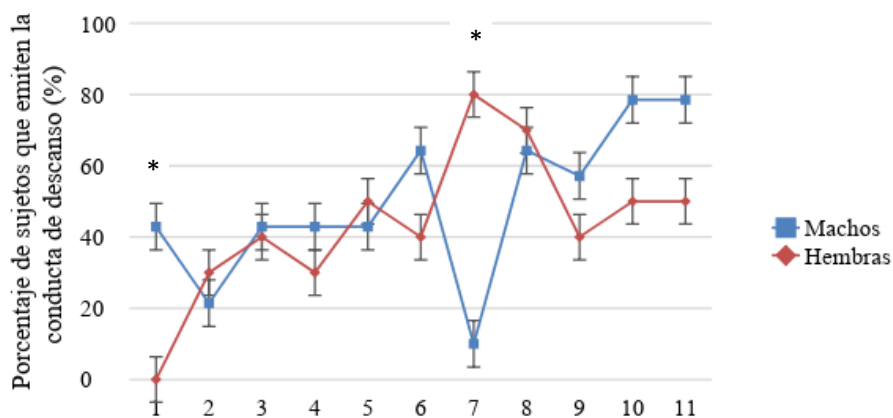


Figura 11. Porcentaje de machos y hembras que descansaron durante los días de registro. * $p < .05$.

El porcentaje de machos y hembras que se mantuvieron inmóviles desde el día de registro 1 al 50, se muestra en la figura 12. El análisis entregrupos de la conducta de inmovilidad, reveló que existen diferencias significativas entre los machos y hembras ($t = .017, < .05$), principalmente en el día 1 ($t = .007, < .05$), y diferencias marginalmente significativas en los días de registro 25 ($t = .014, < .06$), 30 ($t = .014, < .06$) y 35 ($t = .014, < .06$).

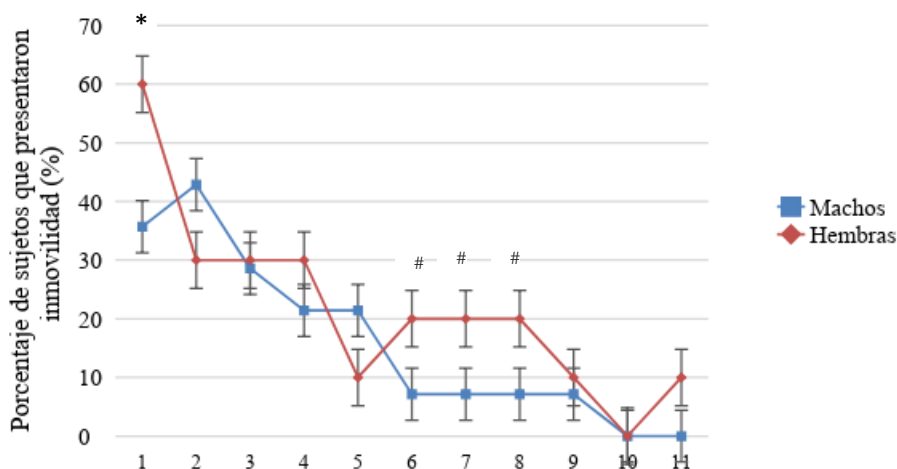


Figura 12. Porcentaje de machos y hembras que descansaron durante los días de registro. * $p < .05$, # $p < 0,06$

Por otro lado, la figura 13, muestra el porcentaje de adultos y jóvenes que emitieron conductas de acicalamiento (A), descanso (B) e inmovilidad (C) en los días 1 y 50 de registro. En el análisis intrasujeto se evidenció un aumento de la conducta de acicalamiento tanto en los adultos ($t = .026, p < .05$), como en los jóvenes ($t = .013, p < .05$). La conducta de descanso apareció en los adultos ($t = .000, p < .05$), y tuvo un aumento significativo en jóvenes ($t = .005, p < .05$). Por el contrario, al igual que entre machos y hembras, se evidenció la desaparición de la inmovilidad en adultos ($t = .050, p > .05$) y una reducción significativa en el grupo de los jóvenes ($t = .042, p > .05$).

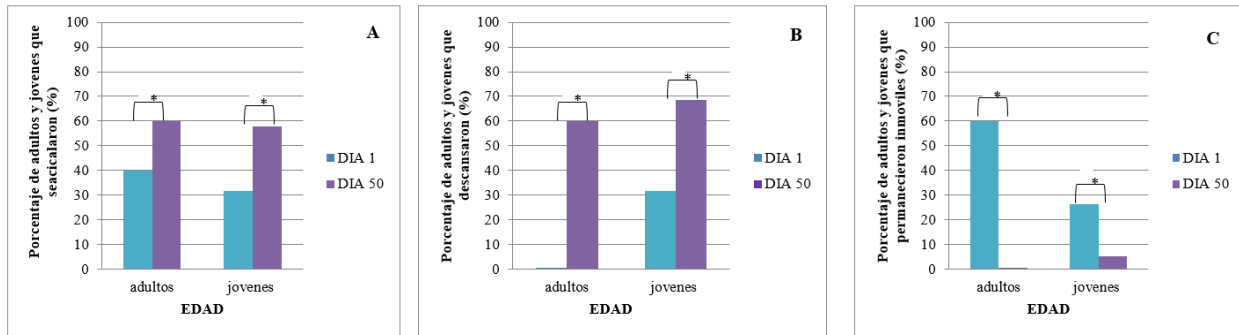


Figura 13. Porcentaje de adultos y jóvenes que emitieron las conductas de acicalamiento (A), descanso (B) e inmovilidad (C) durante los días 1 y 50. * $p < .05$

En el análisis entregupo, representado en la figura 14, se muestra la comparación del porcentaje de adultos y jóvenes que emitieron la conducta de acicalamiento. Se encontró que el porcentaje de sujetos que se acicalaban fueron significativamente diferentes entre adultos y jóvenes ($t = .048$, $p < .05$), principalmente los días de registro 15 ($t = .012$, $p < .05$), 40 ($t = .000$, $p < .05$) y 45 ($t = .015$, $p < .05$). Además, se encontraron diferencias marginalmente significativas los días 20 ($t = .058$, $p < .06$), 25 ($t = .054$, $p < .06$) y 30 ($t = .060$, $p < .06$) a lo largo de la habituación.

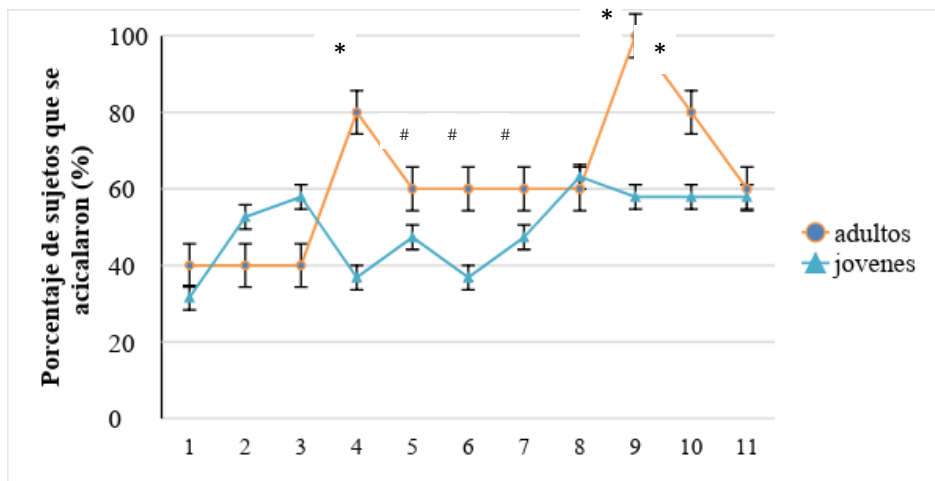


Figura 14. Porcentaje de adultos y jóvenes que se acicalaron durante los días de registro. * $p < .05$, # $p < 0,06$

La figura 15 compara el porcentaje de adultos y jóvenes que emitieron la conducta de descanso desde el día de registro 1 al 50. En el análisis entregupo, a pesar de las diferencias en los días 1

($t=.004, p< .05$) y 30 ($t=.000, p< .05$), no se encontraron diferencias suficientes entre el porcentaje de adultos y jóvenes que emitieron la conducta de descanso. Se encontraron diferencias marginalmente significativas los días de registro 20 ($t=.058, p< .06$) y 25 ($t=.060, p< .06$).

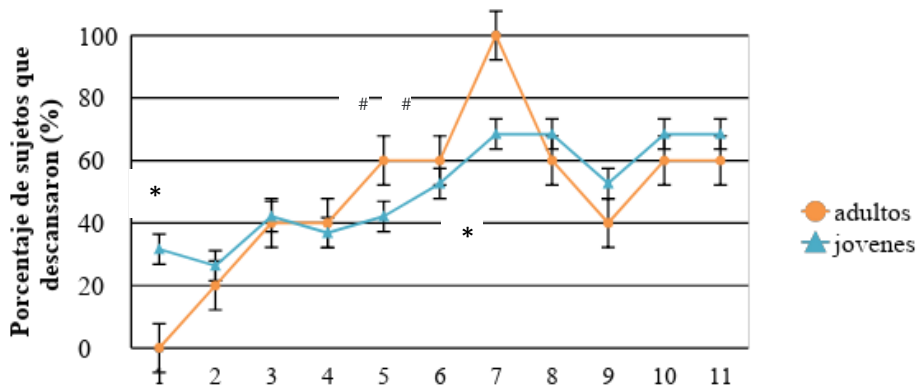


Figura 15. Porcentaje de adultos y jóvenes que descansaron durante los días de registro. * $p< .05$, # $p<0,06$

La comparación del porcentaje de adultos y jóvenes que emitieron la conducta de inmovilidad desde el día de registro 1 al 50 se muestra en la figura 16. En el análisis entregupo, se evidenció que hubo diferencias significativas entre el porcentaje de adultos y jóvenes que permanecían inmóviles ($t=.009, p< .05$), principalmente los días de registro 1 ($t=.047, p< .05$), 30 ($t=.049, p< .05$) y 35 ($t=.009, p< .05$).

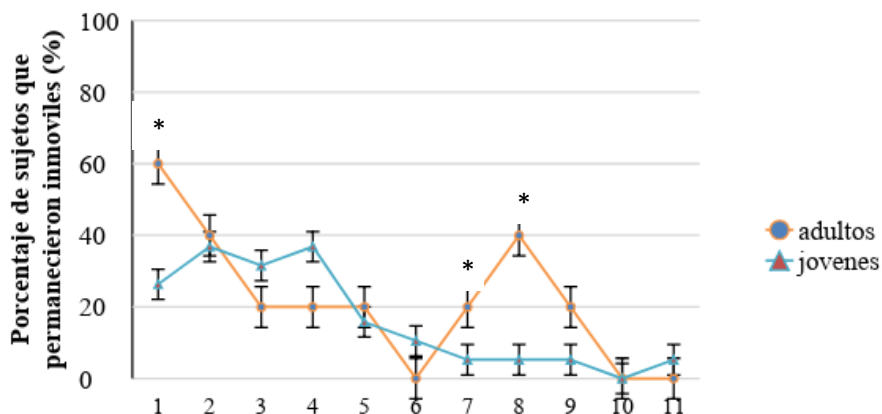


Figura 16. Porcentaje de adultos y jóvenes que permanecieron inmóviles durante los días de registro. * $p < .05$

Fase de entrenamiento

La tabla 2 muestra los resultados de la prueba de normalidad Shapiro-Wilk para los datos correspondientes a la fase de entrenamiento en el laberinto radial de Olton. El análisis de normalidad reveló que los datos correspondientes al número de aciertos, siguieron una distribución normal ($p > 0.05$; $W = .000$, $gl = 648$), por ende, se implementaron pruebas paramétricas para el análisis de este grupo de datos.

Tabla 4. Prueba de normalidad Shapiro Wilk para el grupo de datos de entrenamiento

| | Shapiro-Wilk | | |
|---------------------------------------|--------------|-----|------|
| | Estadístico | gl | Sig. |
| Número de aciertos fase entrenamiento | ,863 | 648 | ,000 |

Nota: gl= Grado de libertad; Sig.= valor de significancia. * $p < .05$

La figura 17 corresponde al promedio del número de aciertos registrados de machos y hembras durante los días de registro en la fase de entrenamiento. La comparación entre cada día de registro permitió evidenciar que hubo diferencias significativas en el grupo de los machos a excepción de la comparación de los días 20 y 25 ($t = .218, p > .05$), 25 y 26 ($t = .263, p > .05$) y 26 y 27 ($t = .218, p > .05$). En el grupo de las hembras, se evidenció que, al igual que los machos hubo diferencias significativas al realizar la comparación cada día, a excepción de la comparación de los días 15 y 20 ($t = .780, p > .05$), 25 y 26 ($t = .269, p > .05$) y, 26 y 27 ($t = .443, p > .05$).

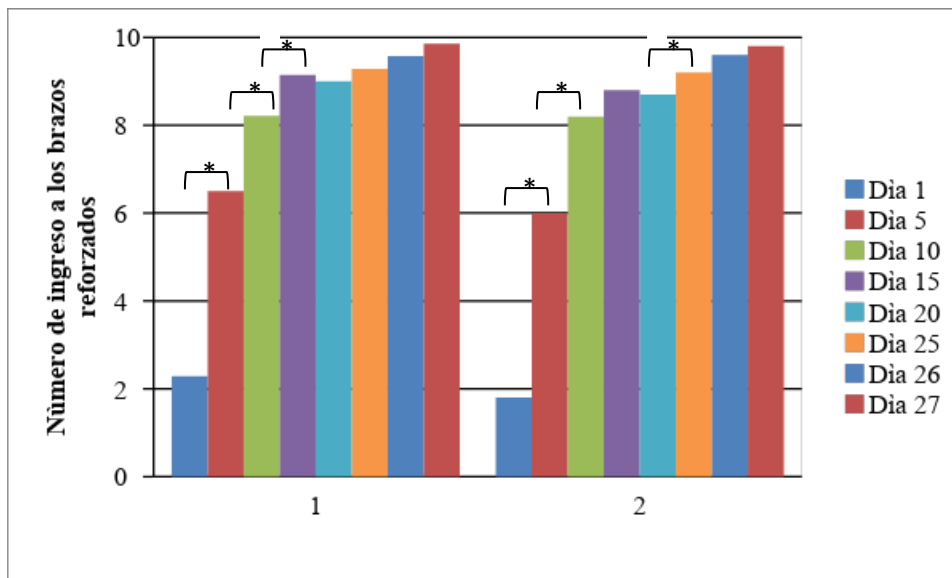


Figura 17. Número de aciertos registrados en el grupo de machos y hembras durante el entrenamiento. * $p < .05$

Al realizar el análisis entregupo, representado en la gráfica 18, se encontró que no hubo diferencias significativas entre machos y hembras respecto al número de aciertos en la tarea de memoria espacial ($Z = .487, p > .05$).

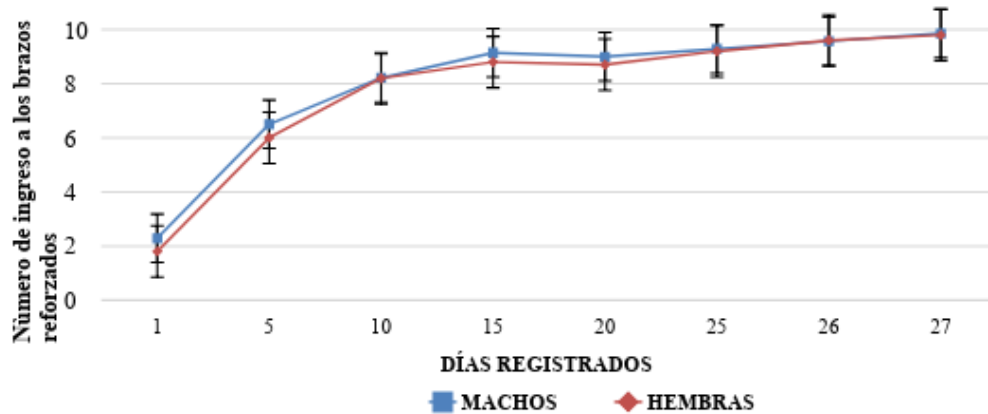


Figura 18. Número de aciertos en el laberinto por sexo durante las 27 sesiones de entrenamiento.

La figura 19 corresponde al promedio del número de aciertos registrados de adultos y jóvenes durante los días de entrenamiento. El análisis intrasujeto reveló que hubo diferencias significativas en el grupo de los adultos al comparar cada día, a excepción de la comparación de los días 20 y 25 ($t = .477, p > .05$), 25 y 26 ($t = .178, p > .05$) y, 26 y 27 ($t = .621, p > .05$). En el grupo de los jóvenes, se evidenció que, al igual que los adultos hubo diferencias significativas al finalizar el entrenamiento, a excepción de la comparación de los días 15 y 20 ($Z = 1.00, p > .05$) y 26 y 27 ($Z = .331, p > .05$).

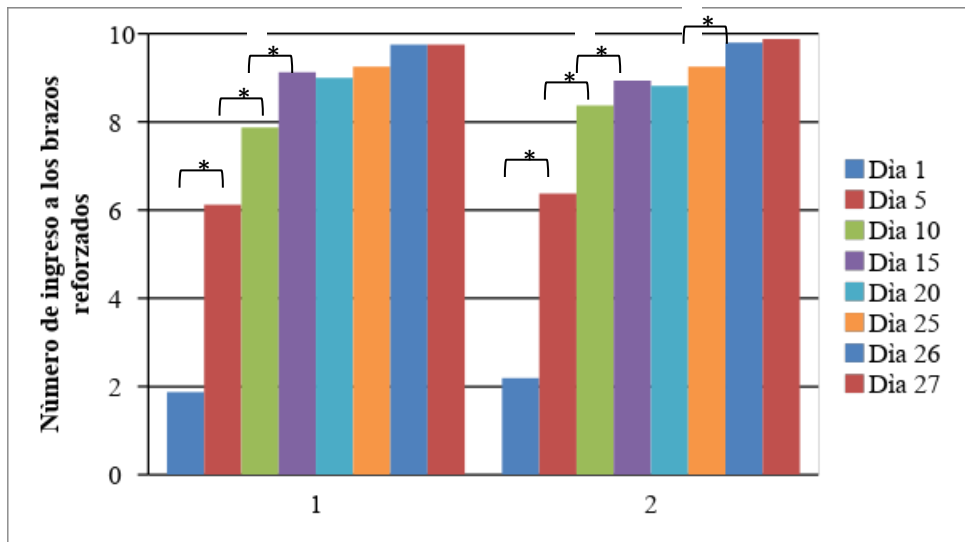


Figura 19. Número de aciertos registrados en el grupo de adultos y jóvenes durante el entrenamiento. * $p < .05$

Al realizar el análisis entregrupo representado en la figura 20, se encontró que no hubo diferencias significativas entre adultos y jóvenes respecto al número de aciertos en la tarea de memoria espacial ($Z = .126, p > .05$).

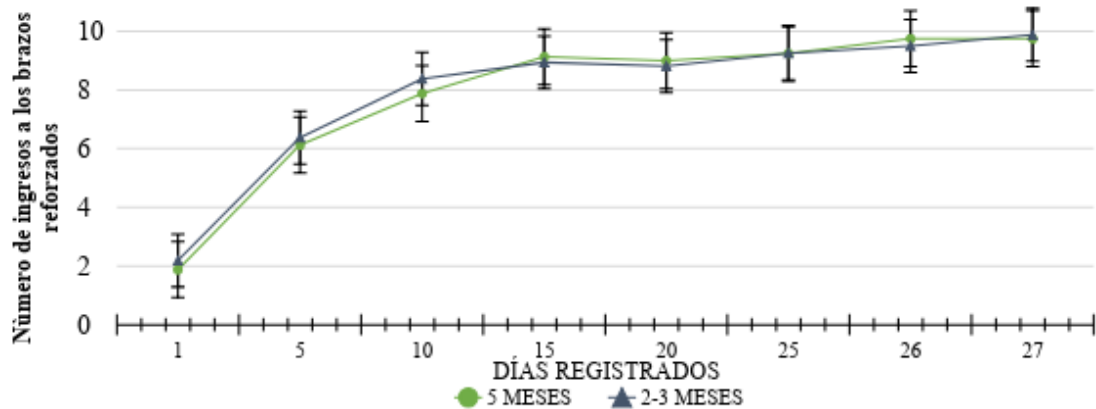


Figura 20. Número de aciertos en el laberinto por edad durante las 27 sesiones de entrenamiento.

Discusión

La edad y el sexo como factores independientes no tuvieron efecto sobre la tarea de memoria espacial evaluada en el laberinto radial de 8 brazos. Ratas jóvenes (5 meses) y adultas (9 meses), mostraron el mismo comportamiento hasta el final del entrenamiento, alcanzando el máximo número de aciertos, en este caso 10. De forma similar, al comparar machos y hembras, se observó que todos alcanzaron el máximo número de aciertos en la búsqueda de los reforzadores en el laberinto, no siendo evidente ninguna diferencia a lo largo de los 27 días de entrenamiento realizados.

En la fase previa al entrenamiento, la fase de habituación, se aplicaron 50 ensayos (10 minutos diarios en el laberinto) en los que la rata exploró libremente el laberinto y se registró el número de entradas a los brazos. Los resultados revelaron que la exposición al laberinto durante los primeros 10 días llevó al aumento de la actividad motora, definido este por el número de ingresos a los brazos del laberinto y la aparición de conductas exploratorias. Estos comportamientos se debieron a la identificación de señales nuevas y a la evitación de posibles peligros en un ambiente novedoso, tal como afirman estudios anteriores el ambiente constituye un entorno variable que exige continuamente cambios en el comportamiento de los animales (Justel & Psyrdellis 2014). Esta activación se observó en la totalidad de las ratas, debido a que la plasticidad conductual se desarrolla de manera óptima desde las primeras etapas del desarrollo del animal, permitiéndole de esta manera responder de manera activa y veloz a los cambios del contexto a edades tempranas (Hernández, et. al., 2015).

En el primer día de habituación se observó una diferencia significativa entre ratas jóvenes y adultas con relación al número de ingresos, mostrando las adultas una tasa más alta, aspecto que corroboran estudios previos, afirmando que, en contraste con los individuos adultos, los juveniles

muestran disminución de la actividad exploratoria, menor exposición a entornos abiertos y un menor desempeño cognitivo en tareas de memoria espacial (Oliveros y Calderón, 2018; Mora, et. al., 2017; Lynn & Brown, 2010).

La aparición de conductas exploratorias se evidenció desde los primeros días de registro, específicamente la conducta de inmovilidad o también llamada congelamiento tuvo un alto porcentaje en hembras en comparación con machos. Esta diferencia de porcentajes de conducta se debe muy posiblemente a que los machos son más propensos a seleccionar y dar una respuesta más activa, típica de lucha o huida, mientras que las hembras muestran una respuesta más defensiva y pasiva como el congelamiento. Además de esto, diversos autores afirman que la modulación de las respuestas responsivas en un ambiente novedoso se asocia con los cambios bioquímicos producidos en las hembras, tales como una mayor producción de estrógenos (Baran, Armstrong, Niren, Hanna, Conrad, 2009; Diehl et al., 2007; citados Polanco & Vargas, 2011).

En cuanto a la edad, se observó que esta activación de la conducta de congelamiento o inmovilidad en las primeras semanas de la habituación tuvo un porcentaje mayor en ratas adultas que en las jóvenes, lo cual corrobora estudios anteriores relacionados a que la conducta locomotora presenta niveles bajos en los roedores púberes y que esta conducta aumenta a medida que lo hace la edad (Lynn & Brown 2010; Mora, et. al., 2017).

Esta exposición repetida al laberinto después de los primeros días generó en los sujetos un declive significativo en las conductas exploratorias y un aumento de aquellas conductas relacionadas al acicalamiento constante y descanso al ingresar a los brazos del laberinto, lo cual es congruente con los datos expuestos anteriormente en relación a la pérdida de la novedad y a la adaptación de las ratas a los cambios ambientales (Moncada & Viola, 2006, citado en Justel & Psyrdellis, 2014), como consecuencia del almacenamiento exitoso de la nueva información

espacial en las centrales de memoria del. Se comprobó que la habituación es el aprendizaje que se da debido a la exposición repetida a un estímulo particular en el que el animal se vuelve menos responsivo hacia el mismo (Mora, et. al., 2017).

Específicamente, se encontró que la conducta exploratoria definida como el ingreso frecuente a los brazos del laberinto, disminuyó de forma significativa después de las primeras semanas de habituación indistintamente del sexo, a pesar de lo expuesto por Justel & Psyrdellis (2014) en sus trabajos doctorales sobre la habituación en ratas, quienes señalaron que las ratas hembra parecen habituarse de manera más rápida que los machos, esto debido a factores externos relacionados a las condiciones de alojamiento y posibles cambios bioquímicos en el organismo de las hembras que alteraron su comportamiento (Polanco & Vargas, 2011). Al comparar las ratas jóvenes y adultas se evidenciaron diferencias marginalmente significativas al inicio de la habituación, particularmente por un menor decremento de entradas a los brazos. Este fenómeno se explica a partir de la importancia de la maduración total de los organismos y de las estructuras hipocampales encargadas de la retención de la respuesta de orientación, proceso esencial en la habitación y demás procesos de mantenimiento del aprendizaje (Hernández, et. al., 2015). A pesar de estas diferencias iniciales, tanto ratas jóvenes como adultas tuvieron un número equivalente de entradas a los brazos al finalizar la fase de habituación.

Se evidenció un aumento gradual en las conductas de acicalamiento (grooming) y descaso durante los días de la fase de habituación, puesto que, como se mencionaba anteriormente, esta fase constituye un tipo de aprendizaje en el que la exposición repetida a un estímulo particular, genera que el animal se vuelva menos responsivo hacia el estímulo mismo (Mora, et. al., 2017). Al realizar el análisis del acicalamiento con base en el sexo y la edad, se encontraron diferencias estadísticamente significativas, demostrando que los machos adultos emiten con mayor frecuencia

esta conducta, debido a que el acicalamiento se constituye como una actividad de desviación con mayor frecuencia en los machos, es decir, como una forma de liberar la tensión surgida entre una situación de estrés al no decidirse o no saber cómo enfrentarse a ella, mientras que las hembras presentan una mejor estrategia de afrontamiento (Moncada & Viola, 2006, citado por Justel & Psyrdellis 2014). Al ser la habituación un proceso que involucra aprendizaje y memoria, los cambios estructurales y funcionales propios de la formación hipocampal han finalizado totalmente en ratas adultas y no en las aun jóvenes (Cadaveira, 2009; Enseñat, 2014).

La inmovilidad o también llamada conducta de congelamiento observada en los primeros días de habituación, tuvo una disminución en los sujetos, producto de la familiaridad y adaptación al contexto. Respecto al factor sexo se encontró que la conducta de inmovilidad tuvo una desaparición más tardía en hembras que en machos, lo cual corrobora lo dicho en estudios anteriores frente a que las hembras presentan niveles altos de congelamiento en comparación con los machos (Baran, Armstrong, Niren, Hanna, Conrad, 2009; Diehl et al., 2007, citados en Polanco y Vargas, 2011). Este fenómeno se puede explicar a partir del supuesto de que las ratas hembra poseen necesidades de búsqueda y protección, tendiendo a presentar comportamientos defensivo-pasivos como la inmovilización (Collaer & Hines, 1995, citado en citados en Polanco y Vargas, 2011).

La conducta de inmovilidad tuvo una desaparición más tardía en ratas adultas que jóvenes, aspecto que contrasta con diversos estudios que sostienen que los jóvenes presentan una mayor reactividad al contexto y por ende un intervalo mayor entre la presentación de los estímulos y los procesos de habituación (Esmoris, Mendez & Spear, 2008, citados en Polanco & Vargas, 2011). Sin embargo, como se evidenció en párrafos anteriores, concuerda con los resultados encontrados por diferentes autores (Lynn & Brown, 2010; Mora y cols, 2017; Oliveros & Calderón, 2018)

demostrando que existe una mayor exploración y mayor tiempo en brazos abiertos a medida que aumenta la edad, evidenciando niveles bajos en la exploración de los adolescentes.

Los resultados correspondientes a la fase de entrenamiento de la tarea en el laberinto radial de Olton, revelaron que los aciertos, entendidos como el ingreso de los sujetos a los brazos reforzados, aumentaron significativamente durante los 27 días de entrenamiento, y por el contrario, el número de errores tuvo una disminución significativa, lo cual confirma lo expresado por diversos autores como Mora y cols. (2017), frente a la expectativa de que los animales muestren una curva de aprendizaje, disminuyendo el número de errores a través de los ensayos y los días.

A pesar de que los resultados no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre machos y hembras durante los primeros 20 días de entrenamiento, se observó que los machos adquirieron más deprisa la tarea que las hembras, pues el número de aciertos en este primer grupo, se estabilizó en el día 20, mientras que en el grupo de las hembras, el número de aciertos se estabilizó solo hasta el día 25 de entrenamiento. Estos resultados concuerdan con datos previos frente a la demostración de que las ratas macho suelen aprender más deprisa y tener una actuación más precisa en tareas de memoria espacial que las hembras, explicado esto a partir de las diferencias en la morfología y neuroquímica de estructuras esenciales en el proceso de memoria como el hipocampo (Peña, 2007).

Mora y cols. (2017), mencionan que factores como la edad o las condiciones de alojamiento pueden mejorar o empeorar el aprendizaje y por ende, influir en la adquisición de la memoria espacial. Este aspecto fue relevante al analizar el número de aciertos en ratas jóvenes y adultas puesto que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en estos grupos. Al inicio de la investigación, las ratas jóvenes tenían entre 2 y 3 meses de edad, lo cual permite plantear que los circuitos cerebrales se encontraban en su pleno desarrollo; sin embargo, al iniciar la fase de

entrenamiento 50 días después, estas ratas se encontraban en una etapa mayor del desarrollo ontológico, en la cual se había formado la integridad del hipocampo (Hernández, et. al., 2015) siendo adultas.

El factor motivacional de la conducta del animal tiene un efecto positivo en la adquisición de la tarea (Domjan, 2007), puesto que se basa en la ley del efecto formulada por Thorndike (1911), la cual, expone que la aparición de una conducta seguida por un suceso satisfactorio del animal, aumenta la probabilidad de aparición de esta. Así pues, en el moldeamiento de la tarea se usaron pellets de azúcar, como reforzador estándar de las ratas, lo cual influyó en la velocidad y constancia del aprendizaje espacial.

Recomendaciones

Una vez concluida la investigación, se consideró relevante precisar para próximas investigaciones de corte experimental la revisión de información referente a las implicaciones y efectos del ambiente tanto de alojamiento como de experimentación en el trabajo con roedores, imperando en aquellas características y condiciones de luz, temperatura y alimentación, pues como se menciona en diversas investigaciones factores como las condiciones de alojamiento pueden mejorar o empeorar el aprendizaje de las ratas y pueden influir el desempeño en la adquisición de la memoria espacial (Mora, et. al., 2017).

Con el propósito de mantener un estatus plausible de validez interna en la investigación, se hace imprescindible la toma de una muestra previamente seleccionada con criterios fijos de edad y sexo, pues la selección de los grupos de sujetos que no son equiparables u homogéneos se considera como una fuente de invalidez que podría influir en los efectos del sexo y la edad en el desempeño de la tarea espacial.

Como comentario final, se considera este estudio como una investigación científica que brinda aportes relevantes a próximas investigaciones en el campo de la memoria espacial, constituye una primera etapa de entrenamiento y de enriquecimiento cognitivo útil para futuros estudios sobre los efectos de aprendizajes previos y enriquecimiento (ambiental y en jaula hogar) en el desarrollo de nuevas tareas.

Referencias

Acosta, C. L., Cantor, A. L., Patiño, L. C., & García, D. A. (2017). *Evaluación del impacto de procesos de reentrenamiento de tareas de cognición espacial en ratas Wistar con lesión hipocampal* (Tesis de pregrado). Universidad Católica de Colombia. Colombia.

Aguirre, E. (2014). La memoria y el aprendizaje y su relación con la masticación. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 15(6), 351-354.

Alonso, V., Santos, K., Díaz, J., Domingo, M. & Pérez, R. (2013). Adrenalectomía y receptor 5-HT1A: un análisis microestructural de la conducta. *Acta Comportamentalia*, 21(4), 413-424.

Álvarez, F. (2012). *Redes neuronales de la memoria espacial: uso de estrategias egocéntricas y de guía* (Tesis doctoral). Universidad de Oviedo, Oviedo.

Álvarez, N. G., González, J. A., Mangin, J. P., & Outaouais, U. D. (2006). Normalidad y otros supuestos. *Modelización con estructuras de covarianzas en Ciencias Sociales: Temas esenciales, avanzados y aportaciones especiales*, 31(2), 122-155.

Artero, S., Tiemeier, H., Prins, N. D., Sabatier, R., Breteler, M. M., & Ritchie, K. (2004). Neuroanatomical localisation and clinical correlates of white matter lesions in the elderly. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 75(9), 1304-1308.

Ato, M., López, J. J., & Benavente, A. (2013). Un sistema de clasificación de los diseños de investigación en psicología. *Anales de Psicología*, 29(3), 1038-1059.

Bajo, M., Fernández, A., & Ruiz, M. (2016). Memoria: estructura y funciones. *Mente y cerebro: de la psicología experimental a la neurociencia cognitiva: Pío Tudela, una trayectoria científica*, 205-236.

Balderas, I., Ramírez, V., & Bermúdez, F. (2004). Cambios morfológicos asociados a la memoria. *Revista de Neurología*, 38(10), 944-948.

Botero, L., & Gómez, R. (2013). Uso de Animales de Laboratorio en Colombia: Reflexiones Sobre Aspectos Normativos y Éticos. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 60(3), 213-219.

Buzsáki, G. & Moser., E. (2013). Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nature Neuroscience*, 16(2), 130-138.

Cabrera, F. (2009). Evaluando memoria de trabajo y de referencia en hámsters dorados (*Mesocricetus Auratus*): una tarea de memoria espacial. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 35(SPE), 117-132.

Cadaveira, M. F. (2009). Alcohol y cerebro adolescente. *Adicciones*, 21 (1), 9-14.

Carasatorre, M., Ramírez, V. y Cintra, S. (2016). Plasticidad sináptica estructural en el hipocampo inducida por la experiencia espacial y sus implicaciones en el procesamiento de información. *Neurología*, 31(8), 543-549.

Carman, M. & Mactutus, C. (2001). Ontogeny of spatial navigation in rats: a role for response requirements? *Behavioral Neuroscience*, 115(4), 870-879.

Caro, F. & De los Ángeles, M. (2005). Variabilidad de los efectos de la motivación sobre las estrategias desarrolladas por ratas en el laberinto radial. *Revista de Psicología*, 14(1), 61-71.

Castillo, D., Sánchez H. & Casasola, C. (2016). Alternancia espacial: el laberinto en forma de T, sus procedimientos y procesos. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 17(5), 36-48.

Chamizo, V. D. (2002). Spatial learning: Conditions and basic effects. *Psicológica*, (23)1, 33-57.

Clark, L., Boutros, N., & Méndez, M. (2012). *El cerebro y la conducta: neuroanatomía para psicólogos*. México: El Manual Moderno.

Cossio-Bolaños, M., Gómez Campos, R., Vargas, R., Fogaça, H., Tadeu, R., & Arruda, M. D. (2013). Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar. *Nutrición Hospitalaria*, 28(6), 2151-2156.

Daniel, J. M. (2015). The Land Radial-Arm Maze: Eight Out of Eight Arms Baited with Food Protocol for Rodents. *The Maze Book*. Humana Press, New York, NY. 429-432.

Domjan, M. (2007). *Principios de aprendizaje y conducta*. Editorial Paraninfo.

Dueñas, Z. (2012). Efectos de la separación materna temprana sobre el desempeño en el laberinto en cruz elevado en ratas adultas. *Acta Biológica Colombiana*, 17(1), 129-142.

Enseñat, M. A. (2018). *Efectos del enriquecimiento ambiental desde los 3, 7 y 18 meses en ratas viejas* (Tesis de maestría). Universitat de les Illes Balears, España.

García, A. V., & Conde, M. J. (2003). Estilos de aprendizaje y grupos de edad: comparación de dos muestras de estudiantes jóvenes y mayores. *Aula abierta*, (82), 97-116.

Gallardo, M. (2018). Alteraciones cognitivas espaciales y no espaciales relacionadas al sistema vestibular: una entidad subdiagnosticada. *Revista de Neuro-Psiquiatría*, 81(2), 95-102.

Gámez, L. P., Hidalgo, A. A., Vázquez, S. O., Sámano, D. P., Reyes, J. N., Acevedo, N. E. B., & Bucio, R. I. (2009). Las diferencias anatómicas cerebrales que implican diferencias funcionales (1a de dos partes). *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 52(4), 177-181.

Hernández, O., Aguilar, J. & García, G. (2015). Hippocampus: neurogenesis and learning. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 15(1), 20-28.

Howard, W., Fotedar, S., Datey, V. y Hasselmo, E. (2005). The temporal context model in spatial navigation and relational learning: toward a common explanation of medial temporal lobe function across domains. *Psychological Review*, 112(1), 75-116.

Jeong, Y., Huh, N., Lee, J., Yun, I., Lee, J. W., Lee, I., & Jung, M. W. (2018). Role of the hippocampal CA1 region in incremental value learning. *Scientific Reports*, 8(1), 9870.

Justel, N. & Psyrdellis, M. (2014). Novedad y modulación de la memoria: Mecanismos neurobiológicos implicados. *Interdisciplinaria*, 31(2), 195-211.

Kesner, P., Lee, I. & Gilbert, P. (2004). A behavioral assessment of hippocampal function based on a subregional analysis. *Reviews in the Neurosciences*, 15(5), 333-352.

Kubík, S. & Fenton, A. (2005). Behavioral evidence that segregation and representation are dissociable hippocampal functions. *Journal of Neuroscience*, 25(40), 9205-9212.

Lacadena, R. (2015). Sesión científica conmemorativa de los premios nobel 2014 en fisiología o medicina y en química. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 80(4), 735-762.

Levin, E. D. (2015). Learning about cognition risk with the radial-arm maze in the developmental neurotoxicology battery. *Neurotoxicology and Teratology*, 52, 88-92.

Ley 18.611. (21 de octubre de 2009). Organización del Sistema Nacional para la Reglamentación del Uso de Animales de Experimentación. República Oriental del Uruguay. Recuperado de <http://www.iibce.edu.uy/ETICA/ley-18611-oct-2-2009.pdf>.

Ley 84 de 1989. (27 de diciembre de 1989). Estatuto Nacional de Protección de los Animales. República de Colombia. Recuperado de https://www.dnp.gov.co/programas/justicia-seguridad-y-gobierno/Documents/ANEXO%203_LEY%2084%20DE%201989.pdf

Lynn, D. A., & Brown, G. R. (2010). The ontogeny of anxiety like behavior in rats from adolescence to adulthood. *Developmental Psychobiology*, 52(8), 731-739.

Manrique, T. (2008). *Desarrollo de la función hipocampal y memoria gustativa en ratas: Papel del contexto temporal*. (Tesis doctoral). Universidad de Granada, España.

Mora, A., Salas, S. & Fornaguera, J. (2017). Efectos del enriquecimiento ambiental dependiente de la edad en el comportamiento, funciones cognitivas y neuroquímica. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 18(3), 66-78.

Morales, C. A. (2017). Sistema de control para mapeo, estímulos lumínicos y sonoros en el laberinto circular de barnes. *Visión Electrónica*, (1), 2.

Morellini, F. (2013). Spatial memory tasks in rodents: what do they model? *Cell and Tissue Research*, 354 (1), 273-286.

Moreno, L., Lamprea, M., & Dueñas, Z. (2009). Diferencias en los comportamientos asociados con la ansiedad de ratas macho y hembra expuestos a un protocolo de estrés crónico por separación maternal temprana. *Suma Psicológica*, 16 (1), 31-43.

Nieto, F. & Moreno, M. (2011). Neurogénesis en el giro dentado del hipocampo: implicaciones para el aprendizaje y la memoria en el cerebro adulto. *Archivos de Neurociencias*, 16(4), 193-199.

Norris, D. (2017). Short-term memory and long-term memory are still different. *Psychological Bulletin*, 143(9), 992.

O'Keefe, J. & Dostrovsky, J. (2014). The hippocampus as a spatial map: Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, 34, 171-175.

Oliveros, C. M., & Calderón, R. P. (2018). Ontogenia del comportamiento en ratas en una batería de pruebas conductuales. *Salud*, 22(1), 18-25.

Ortiz, P. (2011). *Estrés agudo en ratas y su efecto en la adquisición, consolidación y extinción de la memoria espacial: papel de la proteína quinasa erk1/2 y de las proteínas fosfatasas pp1 y pp2b en el hipocampo* (Tesis doctoral). Universidad Nacional de Colombia, Colombia.

Palacios, M., & Pimienta, H. (2008). Efectividad de la ivermectina en un modelo de disquinesia tardía inducida por haloperidol en ratas. *Colombia Médica*, 39(3).

Pardo, J. (2017). *Terapia génica y reprogramación celular en modelos animales de envejecimiento cerebral* (Tesis doctoral). Universidad Nacional de la Plata. Buenos Aires.

Peña O. (2007). *El enriquecimiento ambiental en ratas efectos diferenciales en función del sexo* (Tesis doctoral). Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona.

Psyrdellis, M. & Romina N. (2016). Uso del propranolol como modulador de la memoria y el aprendizaje en modelos animales. *Avances en Psicología Latinoamericana*, 34(3), 565-585.

Polanco, L. & Vargas, C. (2011). Adquisición de la respuesta de congelamiento de ratas: diferencias sexuales en adolescentes y adultos. *Suma Psicológica*, 18(2), 127-137.

Poucet, B., Lenck, P., Hok, V., Save, E., Banquet, P., Gaussier, P. & Muller, U. (2004). Spatial navigation and hippocampal place cell firing: the problem of goal encoding. *Reviews in the Neurosciences*, 15(2), 89-108.

Raz, N., & Rodríguez, K. M. (2006). Differential aging of the brain: patterns, cognitive correlates and modifiers. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 30(6), 730-748.

Ramírez, M. (2007). *Modelo de cognición espacial y navegación en ratas para controlar a un robot móvil autónomo* (Tesis doctoral). Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Rojas, M., Pérez, D., Clavijo, A., García, O. & Gutiérrez, G. (2011). Efectos de la dispersión de alimento sobre la elección y los patrones de exploración. *Acta de investigación psicológica*, 1(1), 132-148.

Sancho, M. (2018). *Efecto de la neuroinflamación sobre la neurotransmisión, aprendizaje y memoria espacial en un modelo animal de encefalopatía hepática* (Tesis de maestría). Universitat Politècnica de Valencia, España.

Sarubbo, M. F. (2017). *Estrategias neuroprotectoras en el envejecimiento cerebral. Mecanismos neuroquímicos y moleculares y su correlación con los efectos sobre las capacidades cognitivas* (Tesis doctoral). Universidad de las islas Baleares. España.

Seymour, P., Dou, H. & Juraska, M. (1996). Sex differences in radial maze performance: influence of rearing environment and room cues. *Psychobiology*, 24(1), 33-37.

Siancas, A. & Ernesto, E. (2015). La función del hipocampo en el procesamiento de la memoria y su deterioro durante el envejecimiento. *Revista Mexicana de Neurociencia* (4), 21-30.

Torres, S., Córdoba, D., Cerón, Z., Amézquita, N. y Bastidas, Z. (2015). Correlación funcional del sistema límbico con la emoción, el aprendizaje y la memoria. *Morfología*, 7(2), 29-44.

Vann, S. D. (2018). Lesions within the head direction system reduce retrosplenial c-fos expression but do not impair performance on a radial-arm maze task. *Behavioural Brain Research*, 338, 153-158.

Vicens, P., Redolat, R. & Carrasco, C. (2003). Aprendizaje espacial y laberinto de agua: metodología y aplicaciones. *Psicothema*, 15(4), 539-544.

Wirt, R. & Hyman, J. (2017). Integrating spatial working memory and remote memory: interactions between the medial prefrontal cortex and hippocampus. *Brain Sciences*, 7(4), 43.

Yamaguchi S., Naoki H., Ikeda M., Tsukada Y., Nakano S., Mori I. & Ishii, S. (2018) Identification of animal behavioral strategies by inverse reinforcement learning. *PLoS Computational Biology* 14(5): e1006122. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006122>

Apéndice A.

Tabla 5. Registro de la edad de sujetos experimentales durante la investigación

| | | | Sesión de habituaación 1 | Sesión de habituaación 15 | Sesión de habituaación 50 | Sesión de entrenamiento 10 | Sesión de entrenamiento 25 |
|------|------|--------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Edad | Sexo | Sujeto | 30-abr. | 18-may. | 19-jun. | 18-jul. | 6-ago. |
| 2 | 1 | 9 | 2 meses 10 días | 3 meses | 4 meses | 5 meses | 5 meses 16 días |
| 2 | 1 | 14 | 2 meses 10 días | 3 meses | 4 meses | 5 meses | 5 meses 16 días |
| 2 | 1 | 15 | 2 meses 10 días | 3 meses | 4 meses | 5 meses | 5 meses 16 días |
| 2 | 1 | 16 | 2 meses 10 días | 3 meses | 4 meses | 5 meses | 5 meses 16 días |
| 2 | 1 | 18 | 2 meses 10 días | 3 meses | 4 meses | 5 meses | 5 meses 16 días |
| 2 | 1 | 19 | 2 meses 10 días | 3 meses | 4 meses | 5 meses | 5 meses 16 días |
| 2 | 1 | 20 | 1 meses 10 días | 2 meses | 3 meses | 4 meses | 4 meses 15 días |
| 2 | 1 | 21 | 1 meses 10 días | 2 meses | 3 meses | 4 meses | 4 meses 15 días |
| 2 | 1 | 22 | 1 meses 10 días | 2 meses | 3 meses | 4 meses | 4 meses 15 días |
| 2 | 1 | 24 | 1 meses 10 días | 2 meses | 3 meses | 4 meses | 4 meses 15 días |
| 2 | 1 | 25 | 1 meses 10 días | 2 meses | 3 meses | 4 meses | 4 meses 15 días |
| 2 | 1 | 26 | 1 meses 10 días | 2 meses | 3 meses | 4 meses | 4 meses 15 días |
| 2 | 1 | 27 | 1 meses 10 días | 2 meses | 3 meses | 4 meses | 4 meses 15 días |
| 2 | 1 | 28 | 1 meses 10 días | 2 meses | 3 meses | 4 meses | 4 meses 15 días |
| 2 | 2 | 10 | 2 meses 10 días | 3 meses | 4 meses | 5 meses | 5 meses 16 días |
| 2 | 2 | 11 | 2 meses 10 días | 3 meses | 4 meses | 5 meses | 5 meses 16 días |
| 2 | 2 | 12 | 2 meses 10 días | 3 meses | 4 meses | 5 meses | 5 meses 16 días |
| 2 | 2 | 13 | 2 meses 10 días | 3 meses | 4 meses | 5 meses | 5 meses 16 días |
| 2 | 2 | 17 | 2 meses 10 días | 3 meses | 4 meses | 5 meses | 5 meses 16 días |
| 1 | 2 | 1 | 6 meses 2 semanas | 7 meses | 8 meses | 9 meses | 9 meses 20 días |
| 1 | 2 | 3 | 6 meses 2 semanas | 7 meses | 8 meses | 9 meses | 9 meses 20 días |
| 1 | 2 | 4 | 6 meses 2 semanas | 7 meses | 8 meses | 9 meses | 9 meses 20 días |
| 1 | 2 | 5 | 6 meses 2 semanas | 7 meses | 8 meses | 9 meses | 9 meses 20 días |
| 1 | 2 | 6 | 6 meses 2 semanas | 7 meses | 8 meses | 9 meses | 9 meses 20 días |