

Bioingeniería aplicada a modelos conductuales en animales de experimentación

*Patricia Vieyra Reyes**

Clementina Jiménez Garcés

Margarita Marina Hernández González

Adrián Hernández Alva

46

RESUMEN

Promover el desarrollo de equipo y software para investigación biomédica, favorece la independencia tecnológica y económica del extranjero. Además, las investigaciones se enriquecen, los tratamientos a pacientes se vuelven factibles y disminuyen los costos. Con ello, favorecemos el desarrollo de herramientas biotecnológicas de calidad e incidimos en la apertura de fuentes de empleo. A continuación mostramos una breve recopilación bibliográfica respecto a la influencia del desarrollo biotecnológico sobre el estudio de conductas relacionadas con ansiedad, depresión, aprendizaje y adicción.

ABSTRACT

Promote the development of equipment and software for biomedical research, supports technological and economic independence from abroad. In addition, investigations are enriched; treatments to patients become feasible and lowering costs. Thus, could be possible the development of biotechnological tools and the opening of jobs. Below we show a brief bibliography review over

* Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma del Estado de México. Paseo Tollocan esq, Jesús Carranza, Toluca 50180, Estado de México, México. e-mail: pvieyra8@gmail.com

the influence of biotechnology developments on the study of behavior related to anxiety, depression, learning and addiction.

Palabras clave: bioingeniería, modelos conductuales, modelos animales, tecnología.

INTRODUCCIÓN

La importancia del desarrollo tecnológico a nivel mundial, y más aún en nuestro país, es un tema recurrente en diversos sectores, basta citar al Foro Consultivo Científico y Tecnológico:

“Debido a que México ha vivido una economía basada en la explotación de los recursos naturales, donde el factor más importante para una actividad competitiva ha sido el bajo costo de una mano de obra intensiva, se encuentra ante el compromiso de transitar hacia una economía basada en una sociedad del conocimiento, en la que el mayor impacto para la competitividad es el valor agregado del producto o servicio derivado de una innovación. Este trayecto obliga a reflexionar acerca de las condiciones que conviene construirse en el país para no aumentar las brechas que actualmente existen en relación con países desarrollados en los temas de educación, ciencia, tecnología y su transferencia, innovación, desarrollo social y desarrollo económico.”

No es suficiente contar con desarrollo tecnológico, éste debe estar orientado a la resolución de problemas reales que permitan proporcionar indicadores para encontrar la solución más idónea. Si se orienta el desarrollo biotecnológico a la investigación, se tiene un doble impacto, dado que reducimos la dependencia tecnológica y se promueve la generación de conocimiento”.

Uno de los campos de investigación donde se ha desarrollado equipo biotecnológico de bajo costo y gran impacto científico, es en el área de neurociencias, donde existen diversos equipos versátiles y de bajo costo que permiten realizar diversas determinaciones con el mismo equipo en diferentes modelos animales de estudio. Los modelos animales más utilizados son los

roedores, ya que proveen una importante herramienta para investigar susceptibilidades genéticas, propiedades farmacológicas, consumo de sustancias psicoactivas y factores neurobiológicos envueltos en diversos desórdenes cognitivos.

A continuación, describimos brevemente los principales desórdenes cognitivos considerados problemas de salud pública, “depresión, ansiedad, alteraciones de memoria de corto y largo plazo y adicciones”, trastornos que para su estudio fomentaron el desarrollo de métodos y técnicas biotecnológicas con altos niveles de confiabilidad y de bajo costo, lo que permitió el desarrollo de proyectos de investigación con alto impacto científico que emplean diversos modelos animales de experimentación.

¿QUÉ ES LA DEPRESIÓN?

La depresión es un desorden heterogéneo crónico que a menudo se manifiesta con síntomas psicológicos, conductuales y fisiológicos [1], este desorden psiquiátrico afecta a más del 21% de la población a nivel mundial [2] por lo que se considera un problema mayor de salud pública.

El Manual Estadístico y Diagnóstico de Desórdenes Mentales-Cuarta Edición (DSM-IV) [1] y la Clasificación Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud, Décima revisión (ICD-10), señalan como síntoma central la incapacidad para experimentar placer “anhedonia”, sin embargo no existen signos o características clínicas claras que indiquen depresión y los subtipos de depresión pueden confundirse debido a la diferente respuesta a sustancias antidepresivas.

Los criterios diagnósticos de DSM-IV para detectar depresión son: humor decaído, irritabilidad, baja autoestima, sentimientos de preocupación, culpa, desesperanza, decremento de la habilidad para concentrarse y pensar, decremento o incremento del apetito, pérdida o ganancia de peso, insomnio e hiperinsomnio, baja energía, fatiga, agitación, decremento de interés por estímulos placenteros

(ej. Sexo, comida, interacción social) y recurrentes pensamientos de muerte y suicidio.

¿QUÉ ES LA ANSIEDAD?

La ansiedad es un estado emocional resultante de presiones adaptativas durante la evolución, esto garantiza la supervivencia y dota de capacidades para enfrentar mejor situaciones amenazadoras y potencialmente dañinas. Este estado hace parte de un amplio continuo de emociones que pueden ir desde el simple estado de alerta frente a un estímulo potencialmente amenazador, hasta las respuestas vigorosas que acompañan el miedo y el pánico. Cuando esos estados están exagerados, ocurren frente a estímulos poco intensos (que en otros organismos no desencadenan emociones) u ocurren de manera continua generando patologías devastadoras como el trastorno de ansiedad generalizada, fobias, ataques de pánico y muchas otras entidades listadas en compendios como la cuarta versión del Manual de Diagnóstico y Estadística de los Trastornos Mentales (DSM-IV) [1]. Cada uno de estos niveles de ansiedad puede ser estudiado teóricamente y experimentalmente de forma diferente con el uso de modelos experimentales [3].

¿QUÉ ES LA MEMORIA Y CUANTOS TIPOS EXISTEN?

La memoria es la capacidad de retener y de evocar eventos del pasado mediante procesos neurobiológicos de almacenamiento y de recuperación de la información básica en el aprendizaje y en el pensamiento. Hace más de 50 años, Hebb propuso que la memoria se divide en memoria a corto plazo en donde se encontraban la memoria de acontecimientos recientes y memoria a largo plazo a la cual le pertenecían los acontecimientos ocurridos en el pasado. Hebb propone que el circuito de la actividad neuronal subyace en la memoria a corto plazo y que la estabilización de esta produce la memoria a largo plazo [4].

- **Memoria mediata**, a corto plazo, memoria de trabajo o funcional es la que guarda y procesa

durante breve tiempo la información que viene de los registros sensoriales. Esta memoria es frágil y transitoria que enseguida se desvanece y que resulta muy vulnerable a cualquier tipo de interferencia. Esta memoria nos capacita para recordar la información pero, es limitada y susceptible de interferencias. Esta vulnerabilidad del proceso le imprime un carácter de enorme flexibilidad que nos permite estar siempre 'abiertos' a la recepción de nueva información.

- **Memoria diferida o a largo plazo** corresponde a todo lo que sabemos o lo que hemos aprendido. Depende de la frecuencia y la continuidad. Una parte de esta memoria contiene diferentes tipos de asociaciones básicas entre estímulos y reacciones aprendidas. A diferencia de la memoria a corto plazo, es una memoria estable y duradera, poco vulnerable a las interferencias [4].

ADICCIÓN

La adicción es un complejo fenómeno con importantes causas y consecuencias sociales y psicológicas. Incluye un proceso biológico que consta de los efectos de la repetida exposición a sustancias psicoactiva (nicotina, marihuana, opioides, cocaína, etc) en un sustrato (cerebro) sobre el tiempo. Las alteraciones que la sustancia produce en neuronas individuales influye en su funcionamiento y esto repercute en el funcionamiento del circuito neural en el que dicha neurona opera. Esto conlleva a complejos comportamientos tales como dependencia, tolerancia, sensibilización y anhelo que caracterizan el estado adictivo [5].

MODELOS BIOTECNOLÓGICOS DESARROLLADOS PARA ESTUDIOS CONDUCTUALES

Cada desarrollo tecnológico debe estar orientado a la resolución de problemas reales que permitan proporcionar indicadores para encontrar la solución más idónea. Si se orienta el desarrollo tecnológico a la investigación, se tiene un doble impacto, dado que

reducimos la dependencia tecnológica y se promueve la generación de conocimiento.

Estudiar la conducta requiere de mucho tiempo, de múltiples repeticiones y de observadores experimentados, por tal motivo, se han desarrollado diversas herramientas automáticas que nos permiten eliminar la subjetividad de datos y dependencia de un observador experimentado. Además, estandarizar y automatizar los procedimientos facilita la publicación de resultados, lo que permite generar y transmitir conocimiento a diversos actores públicos y privados.

A continuación se muestran algunos modelos biotecnológicos empleados para estudios conductuales en modelos animales:

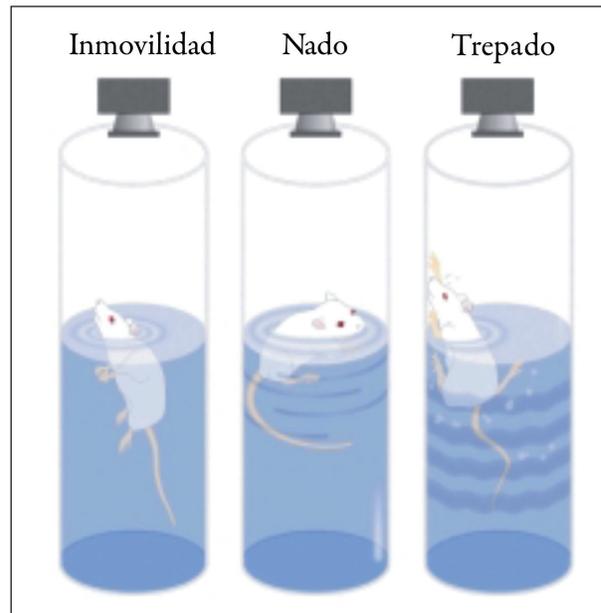
Nado Forzado: La prueba de nado forzado fue propuesta por Porsolt en 1977.

Es un modelo desarrollado en ratas y ratones. Esta prueba es utilizada para evaluar la actividad de los antidepressivos preclínicos. El uso generalizado de este modelo es en gran medida resultado de su facilidad de uso además de la fiabilidad de los resultados de la prueba en el laboratorio así como la capacidad para detectar el amplio espectro de agentes antidepressivos. La prueba se basa en la observación de los movimientos de escape de las ratas, si desarrollan una postura inmóvil cuando se colocan en un recipiente con agua, se cree que reflejan bien un fracaso de la persistencia de la conducta dirigida de escape (es decir desesperanza) (Fig 1).

En un esfuerzo por aumentar la sensibilidad de la prueba de nado forzado tradicional en la rata, Detke y col. en 1995 realizan modificaciones como el aumento de la profundidad del agua a 30 cm, siendo anteriormente de 15-18cm y el control de la temperatura del agua durante la prueba ($25^{\circ} C \pm 2$) [6].

Campo abierto: Esta prueba utiliza conductas no condicionadas, sin embargo, revela cierta variabilidad en los valores conductuales, tiene un nivel alto de validez neurobiológico, no requiere entrenamiento y es menos susceptible a procesos motivacionales. En ratas, se observan conductas que se relacionan con la identificación de la dirección en la que puede encontrarse cualquier peligro. Aquí los roedores despliegan conductas que son topográfica y funcionalmente

Figura 1
NADO FORZADO



similares a la vigilancia o asimilación del riesgo (Fig 2). La prueba de campo abierto permite evaluar ansiedad y actividad locomotora.

Figura 2
CAMPO ABIERTO

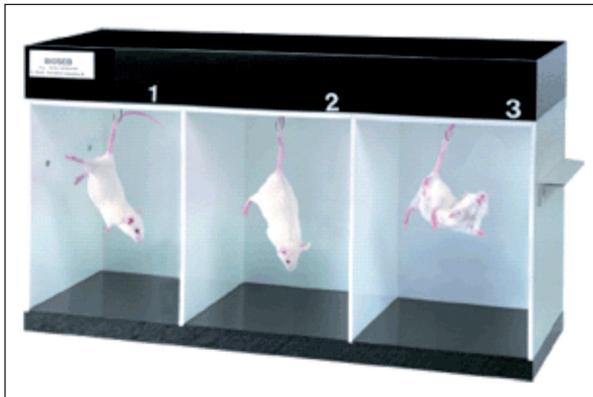


Suspensión de la cola: esta prueba fue descrita en los 80's y es utilizada para evaluar diversas sustancias con efectos psicotrópicos (antidepressivos, sedantes).

Los principios de medición están basados en el desarrollo de energía por el ratón tratando de escapar de su suspensión. Durante la prueba, los movimientos

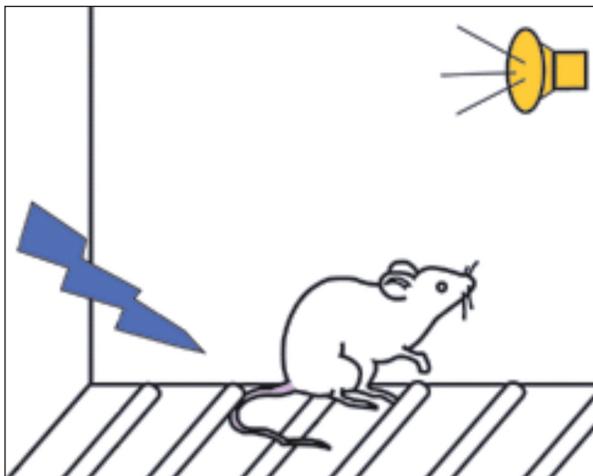
del ratón son analizados en términos de fuerza, energía y desarrollo de fuerza sobre el tiempo. Por ejemplo, los antidepresivos administrados agudamente incrementan el tiempo que el animal se esfuerza por escapar cuando se le suspende de la cola, la pérdida de esfuerzo se piensa representa desesperanza (Fig 3).

Figura 3
SUSPENSIÓN DE LA COLA



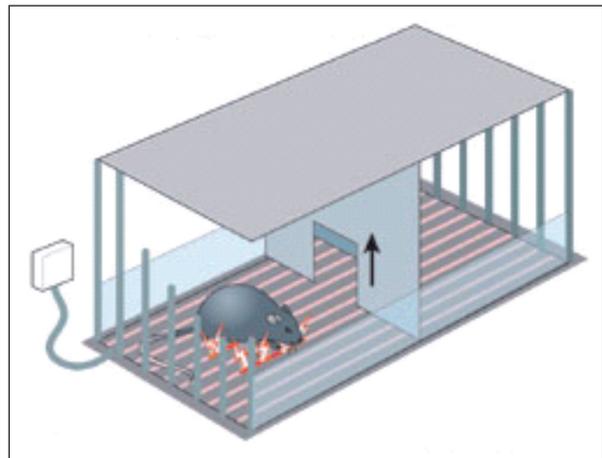
Condicionamiento al miedo: es un tipo de condicionamiento Pavloviano que consiste en emitir un estímulo auditivo seguido de un tono (estímulo neutral) pareado con un shock en las patas (estímulo aversivo). De esta forma, la rata aprende que el tono predice el shock y muestra la emoción de miedo manifestando freezing (cese de todos los movimientos, excepto los respiratorios) (Fig 4).

Figura 4
CONDICIONAMIENTO AL MIEDO



Desesperanza aprendida (learned helplessness): es una prueba que está basada en el condicionamiento Pavloviano. Consiste en la falla para evitar o escapar de un estímulo no placentero o aversivo que ocurre como resultado de un estímulo doloroso previo inevitable. La desesperanza aprendida ha sido asociada a síntomas característicos de la depresión. Una característica del empleo de esta prueba es que los animales expuestos a shocks en las patas toman un tiempo mas largo para escapar o no escapan cuando son expuestos de nueva cuenta a shocks; los antidepresivos disminuyen la latencia de fugas y fracasos (Fig 5).

Figura 5
DESPERANZA APRENDIDA

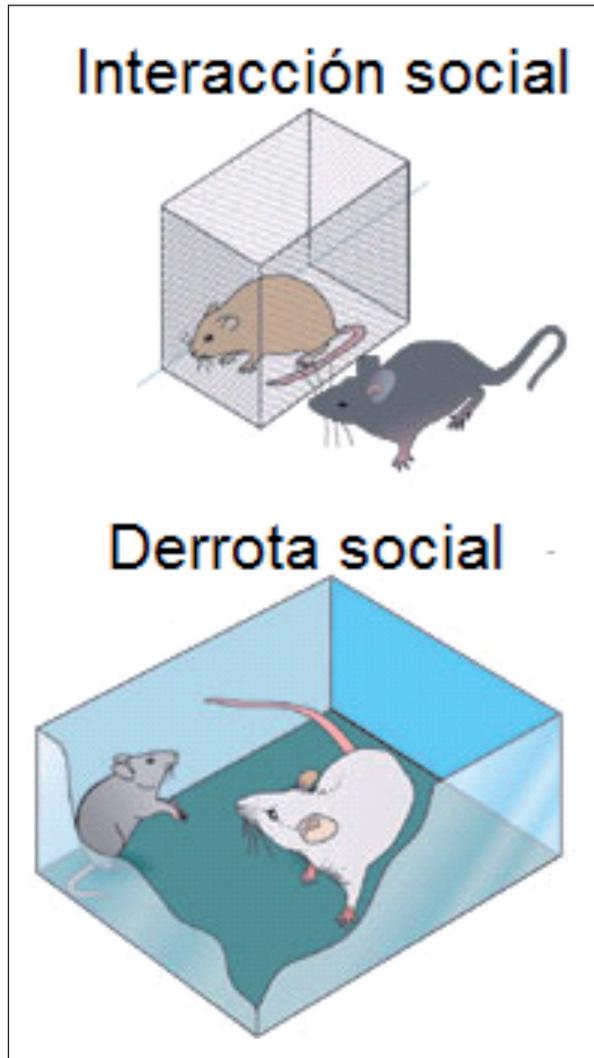


Estrés social (Social stress): Animales expuestos a varios tipos de estrés social (proximidad a machos dominantes, olores de depredadores naturales) muestran anomalías conductuales; tales anomalías han sido difíciles de reproducir, en particular en ratones (Fig. 6).

Pruebas basadas en cognición: La capacidad de los animales para atender, aprender y recordar es medida en una variedad de circunstancias ejemplo: memoria espacial (Laberinto de Morris, Laberinto radial), memoria de trabajo (Laberinto en T, Laberinto de Morris), atención (prueba de 5 opciones seriales) (Fig. 7).

Laberinto de Morris: El laberinto de agua o de Morris fue diseñado por R.G. Morris. Es uno de los modelos más empleados en el estudio del aprendizaje,

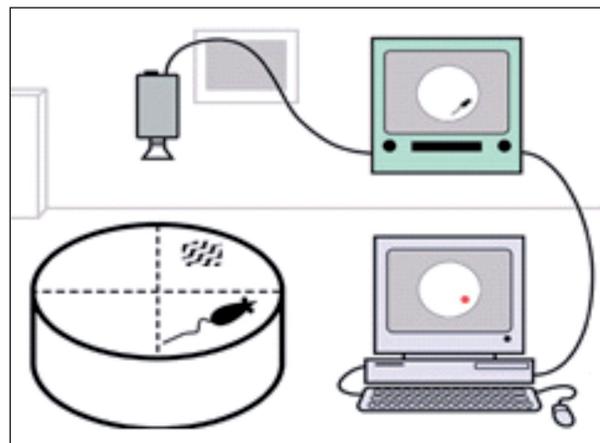
Figura 6
ESTRÉS SOCIAL



memoria y desempeño motor en roedores. Este paradigma resulta de especial interés, puesto que no necesita de la privación de agua o comida ni de la aplicación de una descarga eléctrica para motivar la

conducta. Además, se requieren relativamente pocos ensayos, ya que los animales aprenden rápido, guiándose por claves extra-laberinto y se pueden valorar los efectos de los fármacos sobre los procesos de aprendizaje y memoria de forma más efectiva que en otros laberintos de adquisición más lenta, como el laberinto radial, en el que resulta más difícil distinguir entre los efectos agudos y crónicos. No obstante, hay una correlación elevada entre los efectos de las manipulaciones farmacológicas en el laberinto de Morris y el radial, aunque el primero parece ser más sensible a las alteraciones cognitivas. En el laberinto de Morris también se evita que los animales utilicen claves no espaciales, como el olor para resolver la tarea, además, las estrategias de aprendizaje son más fáciles de detectar y cuantificar que en el laberinto radial (Hodges, 1996; D'Hooge y De Deyn, 2001).

Figura 7
LABERINTO DE MORRIS



A continuación se resumen en la Tabla 1, otras pruebas biotecnológicas utilizadas para determinar conducta en diferentes modelos animales.

Tabla 1

PRUEBAS BIOTECNOLÓGICAS UTILIZADAS PARA DETERMINAR CONDUCTA EN MODELOS ANIMALES

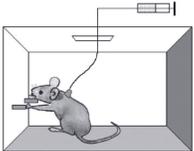
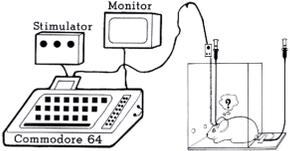
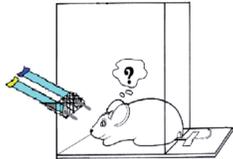
Estrés crónico (Chronic mild stress)	Animales expuestos repetidamente a varios tipos de estrés (frío, interrupción del ciclo luz-oscuridad, shocks en las patas, restricción, interacción social, etc.) muestran reducido consumo de glucosa y reducido comportamiento sexual; sin embargo, esto ha sido difícil de repetir, en particular en ratones.
Estrés a edad temprana (Early life stress)	Animales separados de sus madres muestran anomalías conductuales y del eje Hipotálamo Pituitario Adrenal que persisten en la edad adulta y el uso de antidepresivos revierte estas anomalías.
Bulbectomía olfatoria	La lesión química o quirúrgica al bulbo olfatorio causa anomalías conductuales, algunas de las cuales pueden ser revertidas por antidepresivos.
Pruebas basadas en gratificación	Animales muestran respuestas similares al consumo de sustancias de abuso en ensayos de condicionamiento clásico y operante (Ej. preferencia al lugar condicionado, autoadministración de drogas, refuerzo condicionado y ensayos de autoestimulación intracraneal).

Pruebas utilizadas para estudiar adicción

En la Tabla 2 se muestran algunos de los modelos biotecnológicos más utilizados para investigar adicción.

Tabla 2

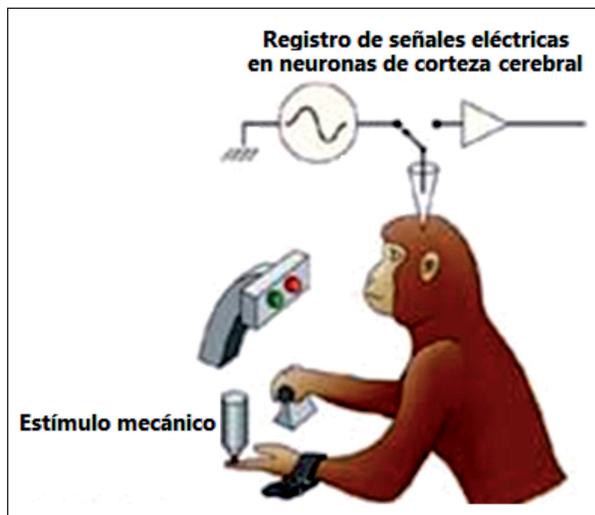
EJEMPLO DE MODELOS ANIMALES UTILIZADOS EN INVESTIGACIÓN DE LA ADICCIÓN

<p>Preferencia al lugar condicionado</p> 	<p>El animal se condiciona a recibir la sustancia adictiva en el compartimento de la caja que presente determinadas señales visuales (ej. paredes con cuadros u oscuras) que la identifiquen, de esta forma elige cuando consumir la droga y sabe donde.</p>
<p>Auto-administración intravenosa</p> 	<p>El animal se condiciona para presionar una palanca y de esta manera obtiene la sustancia adictiva a través de un catéter conectado a su vena yugular.</p>
<p>Auto-estimulación intracraneal</p> 	<p>El animal presiona una palanca para auto-administrarse la sustancia adictiva y recibe una estimulación eléctrica intracraneal.</p>
<p>Auto-administración oral</p> 	<p>El animal elige entre dos bebederos, uno contiene la sustancia adictiva disuelta en agua y el otro simplemente agua.</p>

En las figuras 8 y 9 podemos observar tecnología fina desarrollada en nuestro país y empleada para el estudio de problemas que involucran aspectos cognitivos como la memoria, la comparación y la decisión, utilizando para ello, el modelo animal “mono Rhesus”. Esto es con la finalidad de correlacionar la actividad neuronal con la conducta del sujeto. A grosso modo, en primer lugar se enseña al mono Rhesus a presionar una palanca para indicar si percibe o no un estímulo táctil (Fig 8) o visual (Fig 9). En segundo lugar se le colocan electrodos cerebrales y en tercer lugar se realizan las pruebas para determina como es que las señales táctiles llegan al cerebro y como se comunican diversas áreas cerebrales gracias a la frecuencia e intensidad de la sensación lograda por dicho estímulo [7].

Figura 8

REGISTRO CEREBRAL POR PERCEPCIÓN DE ESTÍMULO TÁCTIL



CONCLUSIONES

En la actualidad, la población mundial presenta alteraciones conductuales consideradas problemas de salud pública como ansiedad, depresión y memoria de corto o largo plazo originadas por diversos factores ambientales o estrés, enfermedades neurodegenerativas, alteraciones en el neurodesarrollo, problemas metabólicos u hormonales, entre otros. Para poder estudiar cualquiera de estos síndromes es necesario usar modelos animales

Figura 9

REGISTRO CEREBRAL POR PERCEPCIÓN DE ESTÍMULO VISUAL



que sean estudiados con herramientas biotecnológicas que nos permitan obtener resultados certeros, precisos, en menor tiempo, replicables y con bajo costo. Actualmente se cuenta con diversas herramientas que nos permiten determinar estas conductas, sin embargo, sus costos de importación son altos pero sus fundamentos sencillos. Por tal motivo, describimos brevemente la aplicación de estas herramientas con la finalidad de generar interés en el desarrollo biotecnológico neuroconductual. Cabe destacar que la finalidad de cualquier herramienta biotecnológica en el área biomédica, ya sea para investigación, terapia o clínica es: eliminar los gastos inherentes de importación de equipo, detonar la realización de investigación de calidad, eliminar la subjetividad en la adquisición de datos, estandarizar y automatizar los procedimientos, eficientar tiempos y obtener resultados confiables y replicables.

REFERENCIAS

1. American Psychiatric Association. 1994. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4^a edition) *American Psychiatric Press*.
2. M.L. Wong, J. Licinio, Research and treatment approaches to depression. *Nat Rev Neurosci*. 2001(2): 343-351.

3. Becerra, A., Madalena, C., Estanislau, A., Estanislao C., Rodríguez, J., Dias, E., Bassi, A., Chagas, D. y Morato, S. Ansiedad y miedo: su valor adaptativo y maladaptaciones. *Rev. Latinoam. Psicol.* 2007. Vol. 39 (1): 75-81.
4. Morgado, I. Psicobiología del aprendizaje y la memoria, *Rev Neurol.* 2005. Vol 4: 289-297.
5. Araki H., Suemaru K., Gomita Y. Neuronal nicotinic receptor and psychiatric disorders: functional and behavioral effects of nicotine. *Jpn J Pharmacol.* 2002, 88: 133-138.
6. Neurobiology of depression. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. *Neuron.* 2002 Mar 28; 34(1): 13-25.
7. Flutter Discrimination: neural codes, perception, memory and decision making. Ranulfo Romo & Emilio Salinas. *Nature Reviews Neuroscience* 2003; 4: 203-218.