

**PASANTÍA TRABAJO TEORICO - PRÁCTICO “OBSERVACIÓN DEL
COMPORTAMIENTO Y BIENESTAR DE RATAS WISTAR EN SU
ALOJAMIENTO EN EL CICLO DE LUZ”**

ANDREA E. ROJAS PINEDA

**UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS
FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN
PROYECTO CURRICULAR LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
BOGOTÁ D.C.
2016**

**PASANTÍA TRABAJO TEORICO - PRÁCTICO “OBSERVACIÓN DEL
COMPORTAMIENTO Y BIENESTAR DE RATAS WISTAR EN SU
ALOJAMIENTO EN EL CICLO DE LUZ NORMAL”**

ANDREA E. ROJAS PINEDA

**Proyecto de Trabajo de Grado bajo modalidad Pasantía para optar al título de
Licenciado en Biología**

Codirector

LUIS FRANCISCO BECERRA GALINDO

Evaluador

JAVIER LEONARDO RICO RODRÌGUEZ

**UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS
FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN
PROYECTO CURRICULAR LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
BOGOTÁ D.C.
2016**

Tabla de contenido

1. INTRODUCCIÓN	5
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
3. JUSTIFICACIÓN	7
4. OBJETIVOS	8
OBJETIVO GENERAL.....	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
5. MARCO TEÓRICO.....	9
5.1. Ciclo circadiano.	9
5.2. Neurobiología del ciclo circadiano.	10
5.2.1. La melatonina.....	11
5.2.2 Los glucocorticoides	13
5.3. Indicadores de bienestar animal.....	14
6. METODOLOGÍA.....	16
Población.....	16
Instrumentos.....	16
Tabla 1	16
Procedimiento	17
7. RESULTADOS.....	17
Piloerección.....	18
Tabla 2	18
Grafica 1.....	18
Porfirinas.....	18
Tabla 3	18
Grafica 2.....	19
Ojos entrecerrados	19
Tabla 4	19
Grafica 3.....	20
Descanso	20
Tabla 5	20
Grafica 4.....	20
Dormir.....	21
Tabla 6	21
Grafica 5.....	21
Levantamientos	21
Tabla 7	21
Grafica 6.....	22

Cruces	22
Tabla 8	22
Grafica 7.....	22
Autoaseo	23
Tabla 9	23
Grafica 8.....	23
Peso.....	23
Tabla 10	23
Grafica 9.....	24
8. ANALISIS DE RESULTADOS	24
9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	26
BIBLIOGRAFÍA	28

1. INTRODUCCIÓN

La mayoría de los seres vivos tienen un ritmo circadiano que se extiende por cerca de 24 horas (Meulen, 2014). En este ritmo circadiano distinguimos una fase activa y una fase de reposo. Los roedores son animales nocturnos, lo que significa que son activos durante la noche cuando hay poca o ninguna luz presente (Meulen, 2014). La manipulación de este ciclo tiene efectos en la fisiología (Clénet, Bouyon, Hascoët, & Bourin, 2006) (Davidson, Sellix, Yamazaki, Menaker, & Block, 2006) y el comportamiento de los animales (Clénet, Bouyon, Hascoët, & Bourin, 2006) (Meulen, 2014)

En el contexto de las prácticas de aprendizaje del laboratorio de Conducta Animal de la Fundación Universitaria Konrad Lorenz se formulan proyectos de investigación asociados a los procedimientos realizados durante la práctica. Los análisis presentados en este trabajo se derivan del proyecto titulado “Efecto de claves externas y orgánicas sobre la renovación de la respuesta condicionada de palanqueo”, propuesto por el docente Victor Oswaldo Gamboa. Ese proyecto tuvo por objetivo observar el efecto de los ciclos circadianos sobre el comportamiento en un paradigma de renovación de una conducta. Dentro de esa propuesta de investigación, con el trabajo teórico-práctico de la pasantía se propuso evaluar el comportamiento y el bienestar de ratas Wistar en sus cajas de alojamiento mientras se encontraban en las fases experimentales del ciclo de luz normal.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Aprendizaje por Condicionamiento Clásico abarca dos procesos principalmente; la etapa inicial o de adquisición, durante la cual se aumenta la respuesta condicionada o se va adquiriendo determinado comportamiento, y el proceso de extinción, correspondiente a la pérdida gradual de la respuesta condicionada (Darley y cols., 1988). La modificación del contexto durante la extinción es capaz de producir una súbita recuperación de una respuesta clásica u operante, o en otras palabras produce una renovación de la respuesta (Bouton & King, 1983) (Bouton, Winterbauer, & Todd, Relapse processes after the extinction of instrumental learning: renewal, resurgence, and reacquisition. , 2012) (Bouton & Todd, A fundamental role for context in instrumental learning and extinction. , 2014). Este efecto de renovación depende de claves contextuales presentes durante la aplicación de los procedimientos de extinción como cambios en luces, sonidos, olores y texturas, y de variables que tengan efectos en la modificación de estados fisiológicos (Bouton, Kenney, & Rosengard, 1990), como la manipulación de los ciclos circadianos (Clénet, Bouyon, Hascoët, & Bourin, 2006) (Meulen, 2014).

En el proyecto de investigación “Efecto de claves externas y orgánicas sobre la renovación de la respuesta condicionada de palanqueo” planteado por el docente Víctor Oswaldo Gamboa de la Fundación Universitaria Konrad Lorenz, se propone observar el efecto de los ciclos circadianos sobre el efecto de renovación de una respuesta sometida a extinción. Esto lo evaluarán mediante diferentes fases de experimentación replicadas en dos momentos, el primero con el ciclo normal de luz y el segundo con el ciclo de luz invertido. De esta forma lo que buscan establecer es una comparación entre el comportamiento de los sujetos bajo procedimientos de renovación y en su alojamiento en los dos tiempos, para establecer, al finalizar estas dos etapas, los efectos de la inversión de los ciclos de luz.

Este proyecto, derivado de esta investigación, se llevo a cabo durante la fase del ciclo de luz normal, y se propone evaluar el comportamiento y bienestar de ratas Wistar en su alojamiento mientras se encuentran en las fases experimentales de esta etapa.

3. JUSTIFICACIÓN

La Biología abarca múltiples disciplinas, entre ellas se encuentra la Psicobiología, línea que se puede ver apoyada desde las Neurociencias. La primera se aborda por este proyecto desde el Laboratorio de Análisis Experimental del Comportamiento de la Fundación Universitaria Konrad Lorenz y la segunda trabajada desde el Grupo de Investigación de Neurociencias (GINUD). Por lo cual el presente trabajo busca generar un aporte que apoye el proceso de aprendizaje que se desarrolla en estos dos grupos de investigación.

Esta Pasantía tiene como objetivo determinar los mecanismos neurobiológicos que influyen en los procesos llevados a cabo en el ciclo circadiano y su efecto en el comportamiento y bienestar de un sujeto. Adicionalmente se espera que este estudio brinde información útil para establecer parámetros que indiquen y garanticen el buen estado de sujetos de experimentación como las ratas Wistar.

En esta medida se busca comprender procesos biológicos desde dos perspectivas y establecer nuevas alternativas de investigación que complementen los objetivos propuestos por estos dos grupos de investigación.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el comportamiento y bienestar de ratas Wistar en su alojamiento en el ciclo de luz normal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los principales indicadores de bienestar animal de ratas Wistar en un bioterio por medio del diseño y aplicación de un formato de evaluación.
- Establecer y confrontar el comportamiento y los indicadores de bienestar de las ratas Wistar en un horario diurno y uno nocturno durante las fases de experimentación.
- Analizar los efectos de las fases experimentales del ciclo de luz normal sobre los sujetos experimentales en los parámetros físicos y comportamentales establecidos.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. Ciclo circadiano.

El ritmo circadiano corresponde a oscilaciones de las variables biológicas a intervalos regulares de tiempo, que se repiten cada 24 horas (Rios, 2011). Cuando los organismos, incluyendo el ser humano, son aislados del contacto directo de señales periódicas ambientales, estos ritmos son capaces de continuar oscilando con una periodicidad cercana a 24 h, indicando la existencia de un mecanismo endógeno compuesto de uno o varios relojes responsables de la ritmicidad biológica. (Mendoza, 2009)

Las células o los grupos celulares que muestran cambios rítmicos en su actividad de una manera autosostenida, y que son capaces de transmitir dicha información al resto del organismo, son conocidos como relojes circadianos. (Mendoza, 2009). Estos están influenciados por diferentes zeitgebers. Zeitgeberes una señal exógena que sincroniza el reloj interno con el entorno o con el ciclo día-noche de la tierra. La luz es la Zeitgeber más prominente del ritmo circadiano en mamíferos. Hay otros factores como la ingesta de alimentos y la interacción social pero el efecto de éstas son mínimas en comparación con el efecto de la luz. (Meulen, 2014)

El ritmo circadiano tiene la posibilidad de ajustarse a la fase de luz-oscuridad (Meulen, 2014). Cuando hay un cambio en el ciclo externo de luz y oscuridad, hay un reajuste en el ritmo circadiano para evitar alteraciones del sistema digestivo, cardiovascular, patrón de sueño, síntesis de adrenalina, comportamiento y modificaciones de actividad hormonal (Saavedra, Zúñiga, Amézquita, & Vásquez, 2013). Sin embargo, esta re sincronización requiere de varios días para adaptarse a este cambio, durante este periodo, se observa una interrupción temporal del ritmo diario. Esto se conoce como trastorno de desfase horario (JLD) o el jet lag (Meulen, 2014).

Todos los procesos fisiológicos muestran oscilaciones a lo largo del día. Prácticamente todos los seres vivos, reconocen ritmos de actividad y reposo (Saavedra, Zúñiga, Amézquita, & Vásquez, 2013). Los roedores son animales nocturnos, lo que significa que son activos durante la noche cuando hay poca o ninguna luz presente. Por lo tanto la mayoría de las

hormonas se invierten de manera que los órganos son activos cuando sea necesario (durante la fase de actividad) (Meulen, 2014).

Muchos investigadores optan por cambiar el ritmo de luz-oscuridad de manera que los animales nocturnos pueden ser evaluados durante su fase activa, debido a que se ha demostrado que los resultados de pruebas de comportamiento pueden llegar a verse afectadas cuando se lleva a cabo en la fase de luz, y en cambio, la reversión del ciclo circadiano podría ser capaz de mejorar el estado de bienestar de los animales (Meulen, 2014).

5.2. Neurobiología del ciclo circadiano.

En los mamíferos el reloj circadiano está presente en el núcleo supraquiasmático (NSQ); situado por encima del quiasma óptico (Moore, Speh, & Leak, 2002) (Silver & Schwartz, 2005) Cada núcleo contiene alrededor de 10000 células, las cuales van a encargarse de generar y coordinar procesos fisiológicos rítmicos como el ciclo sueño-vigilia, la secreción de hormonas y la división celular. (Mendoza, 2009)

El NQS funciona como un marcapasos que a su vez se sincroniza con los relojes periféricos. Así, influye en múltiples órganos como el hígado, el corazón, los pulmones y los riñones. De esta manera, el cuerpo puede activar múltiples órganos necesarios durante la fase activa y limitar los procesos innecesarios durante la fase de reposo. (Meulen, 2014)

El NQS se puede dividir en una parte ventrolateral y una parte dorsomedial. La primera responde a las influencias de la luz, contiene neuronas que expresan diversas sustancias neuroactivas, principalmente péptidos, se caracteriza por la presencia de vasopresina, y la parte dorsomedial se caracteriza por la presencia del péptido intestinal vasoactivo (VIP); la mayoría de las neuronas sintetizan GABA, por lo que estas sustancias son el común en las neuronas del NSQ. (Raúl Aguilar-Roblero, 2004)

En los mamíferos, el NSQ se encuentra anatómicamente bien posicionado para recibir inervaciones neuronales directamente de la retina a través de un tracto nervioso especializado (el tracto retino-hipotalámico) por lo cual el ciclo luz- oscuridad, resultado de la alternancia

entre el día y la noche, viene a ser el sincronizador más importante para el NSQ (Meijer, Michel & Vansteensel, 2007; Meijer & Schwartz, 2003).

La luz entra en el ojo y es absorbida por los fotorreceptores especializados en la retina. Las células de la retina que sintetizan el fotorreceptor rodopsina son las encargadas de transmitir la información luminosa al NSQ (Mendoza, 2009), envían una señal a través del tracto retino (RHT) al marcapasos circadiano en el NQS, que se encuentra en el hipotálamo a (Raúl Aguilar-Roblero, 2004) Estas células liberan neurotransmisores como el glutamato (Mendoza, 2009), que actúan en sus respectivos receptores localizados en la parte ventral del NSQ, llevando una serie de cambios intracelulares (aumento en las concentraciones de calcio), que activan al núcleo para ajustar y cambiar su actividad. (Mendoza, 2009)

En respuesta a esta señal, el NSQ entonces envía señales a la glándula pineal y otros núcleos hipotalámicos. El NQS regula el ciclo de 24 horas de sueño y la vigilia, pero también mantiene otros procesos fisiológicos. Para uno, el NQS estimula la liberación de corticotropina CRH y la vasopresina (AVP) por el hipotálamo. CRH y AVP estimulan la liberación de ACTH por la pituitaria, que a su vez conduce a una liberación de glucocorticoides por la glándula adrenal. AVP también funciona como una hormona antidiurética y causa vasoconstricción.

Casi todas las neuronas del NSQ están conectadas entre ellas, a través de señales químicas en las cuales los neurotransmisores GABA (ácido gamma-aminobutírico) y el péptido vaso activointestinal son los principales responsables para formar un reloj funcional que transmita toda esta información rítmica al resto del cuerpo. (Mendoza, 2009)

Además, el NQS inhibe la producción de melatonina por la glándula pineal. Esta inhibición también es causada directamente por la luz. Durante el tiempo de la actividad se denota un aumento en la producción de glucocorticoides y picos de melatonina durante la noche.

5.2.1. La melatonina

La melatonina es a la vez mensajero hormonal del núcleo supraquiasmático y regulador de la actividad de este núcleo. Esta hormona se sintetiza a partir del triptófano en la glándula pineal.

La glándula pineal, que sirve de interfase principal entre el medio ambiente luminoso, el sistema endocrino y el NQS, sintetiza la hormona melatonina a partir del triptófano y la libera hacia la circulación, donde alcanza sus concentraciones máximas en horas de la noche. Esta hormona inductora del sueño a su vez actúa en el NSQ por mediación de receptores específicos (ML-1, ML-2, ML RR). (Díaz-Negrillo, 2013)

La síntesis de melatonina en la glándula pineal se produce de manera circadiana, y no se almacena sino que se libera en cuanto la sintetiza (Reiter, 1993), lo que hace que los niveles de melatonina circulantes varíen con un periodo circadiano y sean más altos durante el periodo de oscuridad. Esta producción circadiana de melatonina es el resultado de la llegada de información nerviosa a la glándula pineal desde el núcleo supraquiasmático. Este último núcleo proyecta al núcleo paraventricular, que a su vez proyecta directamente a las neuronas de la columna intermedia de la médula espinal.

Estas neuronas preganglionares inervan al ganglio cervical superior, que inerva la glándula pineal (Moore R. , 1999). Por la noche las neuronas postganglionares del ganglio cervical superior estimulan la síntesis de melatonina en la glándula pineal. Es condiciones de oscuridad continua los niveles de melatonina circulantes muestran un ritmo circadiano (Reiter, 1993). La presencia de luz actúa de dos maneras sobre la melatonina (Erren, Reiter, & Piekarski, 2003) su alternancia periódica sincroniza el ritmo circadiano de melatonina, un pulso suficientemente largo y de suficiente intensidad inhibe la síntesis y liberación de (García, 2004)

La melatonina ejerce distintas acciones en el organismo: Regula los ritmos circadianos endógenos. La administración exógena de melatonina sincroniza los ritmos circadianos que se encuentran en curso libre. Entre ellos el ritmo circadiano de la actividad de las neuronas del núcleo supraquiasmático, ésta sincronización se produce a través de los receptores de alta afinidad para la melatonina existentes en este núcleo. En humanos, la administración de melatonina sincroniza los ritmos de temperatura, sueño/vigilia y el de la melatonina endógena. La curva de respuesta de fase es una imagen especular de la que producen los pulsos de luz. (Cassone, Chesworth, & Armstrong, 1986) (Reiter, 1993). Bajo fotoperiodos naturales, la duración del pico nocturno de melatonina es directamente proporcional a la duración del periodo de luz. El fotoperiodo cambia con las estaciones del año, siendo las noches más cortas en verano y más largas en invierno, y en consecuencia, los picos de melatonina duran menos en verano que en invierno. En animales de reproducción estacional, la melatonina regula el

tamaño de los órganos sexuales, la secreción de hormonas asociadas con la fisiología reproductiva y el ciclo estral (Reiter, 1993) (Moore R. , 1999). Regula la sensibilidad a la luz en la retina.

La melatonina participa en la regulación de las variaciones diarias de fotorreceptores y de la función de epitelio pigmentado, regula la cantidad de luz que llega al receptor controlando el movimiento de los melanosomas en el epitelio pigmentado (Vanecek, 1998). Está implicada en la regulación de la función vascular y de la secreción hormonal (Vanecek, 1998), tiene una importante función como agente antioxidante y protector frente a los radicales libres. (García, 2004)

5.2.2 Los glucocorticoides

Los glucocorticoides se liberan durante la fase activa del animal. Los glucocorticoides tienen muchas funciones diferentes en la homeostasis y el estrés. La mayoría de las funciones son para maximizar la capacidad para hacer frente a un factor de estrés (con epinefrina y norepinefrina). Por ejemplo, los glucocorticoides conducen a un aumento del tono cardiovascular, la concentración de la energía a los músculos (para luchar o huir), la inhibición de la fisiología de la reproducción y el apetito, el aumento de las tasas de perfusión cerebral y la cognición agudizada (Meulen, 2014)

Además los glucocorticoides tienen un efecto inmunosupresivo. Ellos también tienen un efecto estimulante sobre los relojes periféricos en el hígado, el corazón y, finalmente, posiblemente también tienen un efecto sobre el reloj circadiano en el hipotálamo. La función metabólica de los glucocorticoides es aumentar la concentración de glucosa mediante la estimulación de la gluconeogénesis en el hígado, la movilización de aminoácidos, la inhibición de la captación de glucosa por los músculos y los tejidos adiposos y estimulan descomposición de las grasas. El glucocorticoide más importante es cortisol.

Los glucocorticoides son liberados tanto por picos cortos durante el estrés y por la glándula suprarrenal por el ciclo circadiano. Bajo la influencia de estrés o en respuesta a una señal procedente de NQS, las emisiones al hipotálamo provocan la liberación de la hormona corticotropina y arginina vasopresina. Estos inducen la liberación de la hormona

adrenocorticotrópica (ACTH) por la glándula pituitaria. A su vez ACTH estimula la síntesis de corticosteroides por la glándula suprarrenal. El pico circadiano ocurre temprano en la mañana (diurna) o temprano en la noche (nocturna) al inicio de la fase activa

5.3. Indicadores de bienestar animal

El concepto de bienestar animal implica un estado dinámico, variado en sus manifestaciones y enormemente complejo (Rodríguez, 2009). Existen varias definiciones de bienestar animal, en este proyecto se tomarán en cuenta aquellas que definen el bienestar animal en términos del funcionamiento del organismo animal y las que lo definen de acuerdo a la medida en que la conducta que muestra el animal y el entorno en que se encuentra son parecidos a la conducta y entorno naturales de la especie (Rodríguez, 2009).

Bienestar, se puede entender como, la capacidad de un animal para mantener sus parámetros de homeostasis a unos niveles normales. Un animal sólo es capaz de mantener esos niveles cuando dispone de los medios fisiológicos y conductuales para normalizar la situación. Sin embargo, cuando esto no ocurre con el paso del tiempo el animal desarrollará estrés, que se puede manifestar como una conducta anormal o una enfermedad (García, 2012). Por tanto, ante un ambiente especialmente difícil, la mortalidad y la prevalencia de enfermedades multifactoriales serán indicadores de ausencia de bienestar animal (Rodríguez, 2009).

La naturaleza de estos criterios puede variar entre individuos, por lo cual se han determinado específicamente para ratas, unos signos claves que son indicadores de mal estado, dolor o sufrimiento en los animales de experimentación:

Oculares: Párpados semicerrados. Los ojos pueden aparecer hundidos, y la descarga ocular es común (García, 2012), progresando frecuentemente hasta una exudación de hematóporfirina roja alrededor de los ojos. Si hay una descarga nasal, puede ser también roja (CCPA, 1998).

Aspecto: Uno de los primeros signos de dolor o de cualquier otro estímulo estresante es la pérdida de peso. Esto se debe a que esos estímulos negativos inhiben el consumo de alimento. El peso será un parámetro especialmente útil en procedimientos largos. En general, pérdidas

de peso iguales o superiores a un 20-25% se consideran indicativas de un problema severo(CCPA, 1998).

También se puede dar aumento de la piloerección, de esta forma, el pelo muestra un aspecto desaliñado con alguna pérdida en zonas aisladas(Garcia, 2012). Tanto la piloerección como un pelo desordenado y sin brillo son indicativos de un problema. Las situaciones de estrés crónico inhiben la conducta normal de acicalamiento de los animales. Adicionalmente, es importante comprobar la presencia de restos de diarrea en la región perianal. Finalmente, las posturas anormales antiálgidas y los temblores son indicadores importantes de problemas de bienestar (CCPA, 1998).

Alteraciones en los comportamientos típicos de la especie: Los períodos de sueño pueden estar perturbados y aumentarán si el dolor o la angustia persisten. Los animales que sufren demuestran inicialmente un estado creciente de vivacidad/agresividad y una tendencia a morder, pero eventualmente, llegan a estar deprimidos y no responden más. El comportamiento exploratorio disminuye y puede aparecer un comportamiento hostil hacia los otros animales. Durante etapas posteriores, es posible que los animales se mutilen al nivel del sitio del dolor(CCPA, 1998) (Garcia, 2012)

Locomoción: Si hay dolores abdominales, pueden aparecer contracciones abdominales y movimientos lentos. El dolor puede aumentar con la locomoción(CCPA, 1998). El desplazamiento lento se asocia con obstrucción intestinal o ascitis(Garcia, 2012). Se puede observar una cojera de un miembro o simplemente un paso cuidadoso. El animal puede moverse en círculo cuando su equilibrio está perturbado (CCPA, 1998)

Variables clínicas: Los cambios en la temperatura corporal y en la frecuencia cardíaca y respiratoria pueden indicar un problema de estrés o dolor (Garcia, 2012).

6. METODOLOGÍA

Población

Se escogieron 10 ratas Wistar al azar dentro de 30 sujetos experimentales pertenecientes al proyecto “Efecto de claves externas y orgánicas sobre la renovación de la respuesta condicionada de palanqueo “de la Fundación Universitaria Konrad Lorenz. Se distribuyeron por parejas en cajas individuales, con libre acceso a comida y agua.

Instrumentos

Se usaron formatos de registro diseñados para evaluar el bienestar y comportamiento de ratas Wistar en su alojamiento, cronómetros para determinar el tiempo de observación y una balanza analítica para determinar el peso de los animales.

El formato de evaluación contenía los siguientes indicadores de bienestar y de comportamiento:

Tabla 1

Indicadores de bienestar

Indicador	Descripción
Piloerección	El pelo muestra un aspecto desaliñado (García, 2012).
Porfirinas	Descarga ocular, progresando frecuentemente hasta una exudación rojiza alrededor de los ojos (CCPA, 1998).
Ojos entrecerrados	Párpados semicerrados.
Descanso	Reposar con ojos abiertos y/ o cerrados, puede acompañarse de husmeo (Santacruz, Oyuela, Briñez, Echeverry, & Lareo, 2008).
Dormir	Ojos cerrados y posición enroscada (Santacruz, Oyuela, Briñez, Echeverry, & Lareo, 2008).
Levantamientos	Pararse en dos patas.

Cruces	La caja de alojamiento se dividió en tres partes iguales, atravesar alguna de estas divisiones corresponde a un cruce.
Autoaseo	El sujeto limpia su cuerpo o su hocico, usando sus patas delanteras o lamiéndose (Santacruz, Oyuela, Briñez, Echeverry, & Lareo, 2008).
Peso	Medida de masa corporal tomada por medio de una balanza analítica.

Procedimiento

Se asignaron aleatoriamente 10 ratas Wistar macho, alojadas por parejas para la evaluación de su comportamiento, una vez constituidas se observaban dos veces al día, la primera en un horario diurno comprendido entre las 2:00 pm a 3:30 pm, la segunda en un horario nocturno entre las 6:00 pm a 7:00 pm.

Al inicio de cada observación los sujetos se estimulaban moviendo la caja de alojamiento hasta una mesa de transporte, posteriormente se daba paso a la observación. Esta se hacía registrando los indicadores de bienestar establecidos en el formato de evaluación durante 1 minuto por pareja.

Por último los sujetos eran llevados a la zona de control de peso donde se encontraba la balanza analítica para determinar su masa corporal.

7. RESULTADOS

Se obtuvo un total de 6 observaciones para el horario diurno (entre las 2:00 pm a 3:30 pm) y 6 observaciones para el horario nocturno (entre las 6:00 pm a 7:00 pm.). En estas se contabilizó en cada sujeto la frecuencia de levantamientos, cruces y autoaseo; el número de veces que se presentaban los indicadores de piloerección, porfirinas, ojos entrecerrados; las conductas de descanso, dormir, y la medida de peso.

Los indicadores de piloerección, ojos entrecerrados, descanso, dormir y autoaseo se presentaron con muy poca frecuencia por lo que se realizó una sumatoria de las veces que se

presentaron durante las observaciones, en contraste con las demás observaciones de las cuales se calculó el promedio de la frecuencia en la que se manifestaron.

Con base en esto, se confrontaron los datos obtenidos en los dos horarios y se halló el error estándar de cada uno de ellos, obteniendo las siguientes tablas y gráficos:

Piloerección

Tabla 2

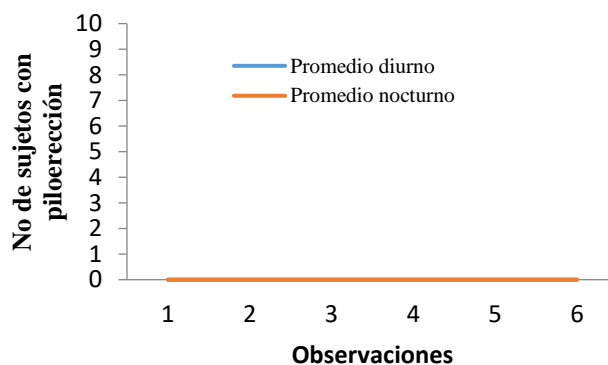
Indicador de Piloerección

Observación n	Sumatoria Total	Sumatoria diurno	Sumatoria Nocturno
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0

0: no presento indicador

Grafica 1

Indicador de Piloerección



No se presentó piloerección en ninguno de los sujetos estudiados.

Porfirinas

Tabla 3

Indicador de Porfirinas

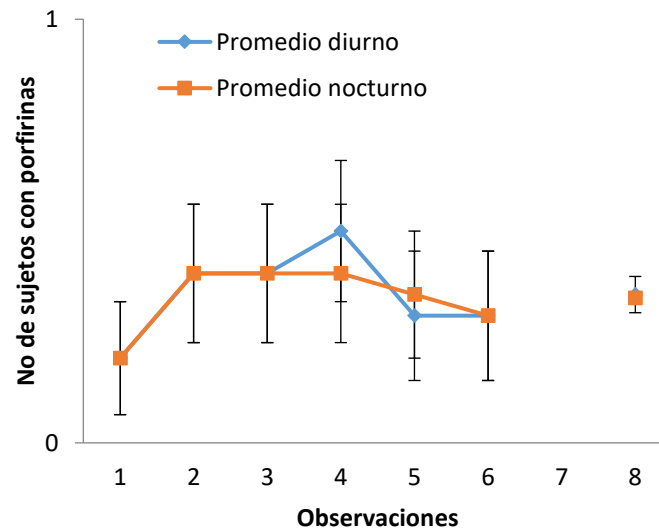
Observación	Promedio Total	Promedio diurno	Promedio nocturno
1	4	0,2	0,2
2	8	0,4	0,4

3	8	0,4	0,4
4	9	0,5	0,4
5	6,5	0,3	0,35
6	6	0,3	0,3

1: Corresponde al 100% de la presencia del indicador en los sujetos.

Grafica 2

Indicador de Porfirinas



Se empezó a evidenciar la presencia de porfirinas en las observaciones nocturnas, sin embargo no hay diferencia significativa entre los dos horarios.

Ojos entrecerrados

Tabla 4

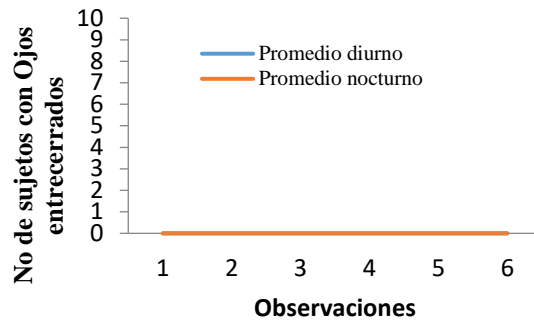
Indicador de Ojos entrecerrados

Observación	Sumatoria Total	Sumatoria diurno	Sumatoria nocturno
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0

0: No se presentó el indicador.

Grafica 3

Indicador de Ojos entrecerrados



No hubo presencia de ojos entrecerrados, se mantuvo normal esta variable en los sujetos.

Descanso

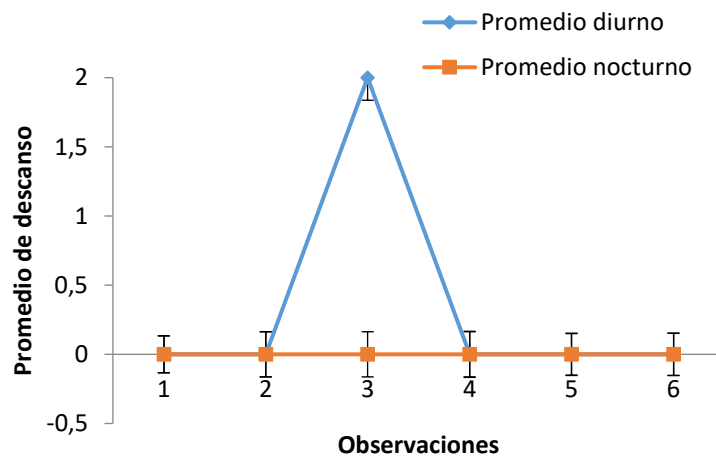
Tabla 5

Indicador de Descanso

Observación	Sumatoria Total	Sumatoria diurno	Sumatoria nocturno
1	0	0	0
2	0	0	0
3	2	2	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0

Grafica 4

Indicador de Descanso



En las observaciones diurnas se dio en mayor medida la conducta de descanso; sin embargo, no hay una diferencia significativa entre los dos horarios.

Dormir

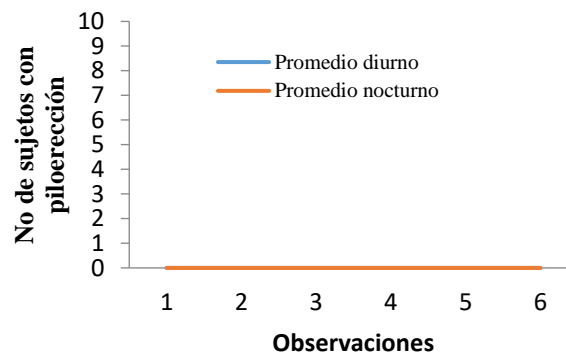
Tabla 6

Indicador Dormir

Observación	Sumatoria Total	Sumatoria Diurno	Sumatoria nocturno
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0

Grafica 5

Indicador Dormir



No se presentó la conducta de dormir en ninguno de los dos horarios.

Levantamientos

Tabla 7

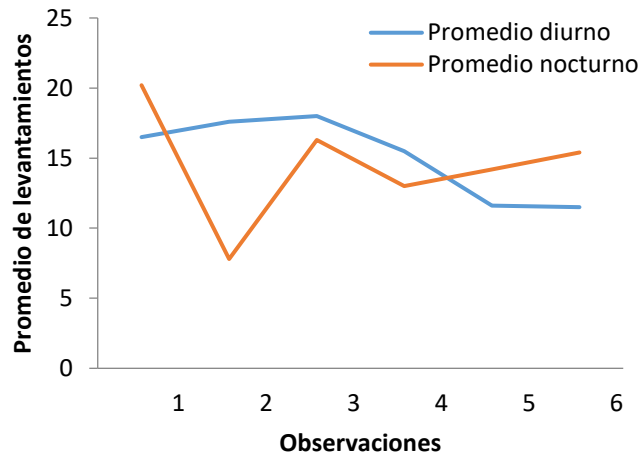
Indicador de Levantamientos

Observación	Promedio Total	Promedio diurno	Promedio nocturno
1	18,35	16,5	20,2
2	12,7	17,6	7,8
3	17,15	18	16,3
4	14,25	15,5	13
5	12,9	11,6	14,2
6	13,45	11,5	15,4

Se indica el promedio de los números de levantamientos que realizaron los sujetos.

Grafica 6

Promedio de levantamientos



Constantemente se evidencia la conducta de levantamientos en los dos horarios, presentándose un mayor número de levantamientos en el horario nocturno.

Cruces

Tabla 8

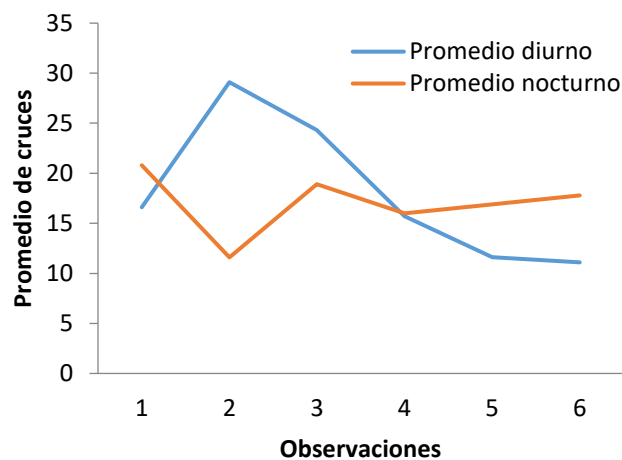
Indicador de Cruces

Observación	Promedio Total	Promedio diurno	Promedio Nocturno
1	18,7	16,6	20,8
2	20,35	29,1	11,6
3	21,6	24,3	18,9
4	15,85	15,7	16
5	14,25	11,6	16,9
6	14,45	11,1	17,8

Se indica el promedio del número de cruces realizados por los sujetos

Grafica 7

Promedio de Cruces



Los cruces en el alojamiento se presentaron frecuentemente en los dos horarios, mostrándose más variable en el horario nocturno y descendente en las horas diurnas.

Autoaseo

Tabla 9

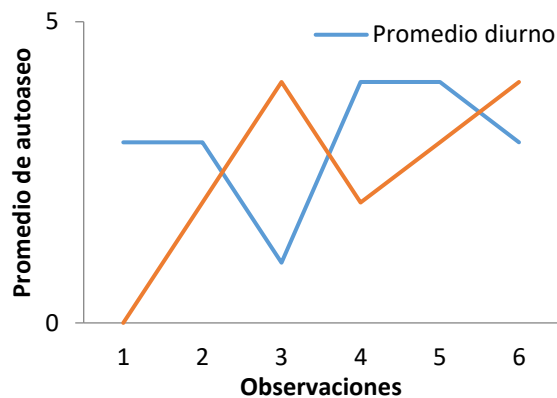
Indicador de Autoaseo

Observación	Sumatoria Total	Sumatoria diurna	Sumatoria Nocturno
1	3	3	0
2	5	3	2
3	5	1	4
4	6	4	2
5	7	4	3
6	7	3	4

Se indica el número de veces que se presentó el autoaseo en los sujetos.

Grafica 8

Promedio de Autoaseo



La conducta de aseos varía en las diferentes observaciones, no se denota una diferencia significativa entre los dos horarios, sin embargo al observar la sumatoria total el autoaseo aumenta a medida que transcurre el tiempo.

Peso

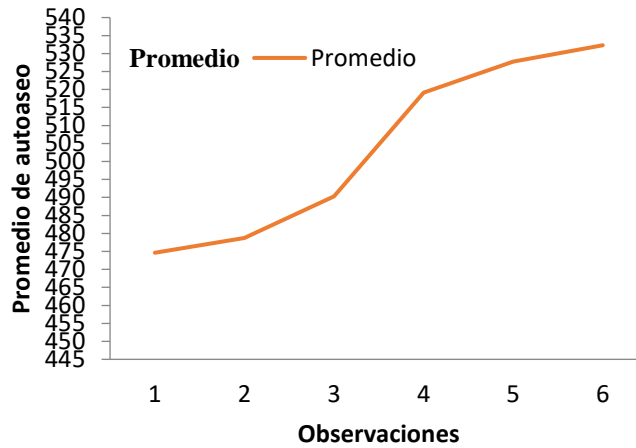
Tabla 10

Indicador de Peso

Observación	Promedio Total	Promedio diurno	Promedio nocturno
1	474,63	474,63	474,63
2	478,73	478,73	478,73
3	490,29	490,29	490,29

4	519,09	519,09	519,09
5	527,8	527,8	527,8
6	532,3	532,3	532,3

Grafica 9



Promedio Total de Peso

El indicador de masa corporal es el mismo para los horarios nocturnos y diurnos por lo que no se puede establecer una comparación entre estos dos. Los datos obtenidos indican que los sujetos fueron aumentando de peso a medida que transcurría el tiempo de investigación.

8. ANALISIS DE RESULTADOS

Los ciclos circadianos están regulados por zeitgebers, o señales exógenas que sincronizan el reloj interno con el entorno (Saavedra, Zúñiga, Amézquita, & Vásquez, 2013). El principal zeitgeber es la luz, cuando el estímulo de luz es prolongado, se producen hormonas que aumentan la actividad (Mendoza, 2009). Las ratas Wistar, a pesar de ser nocturnas y tener su fase de sueño durante el día no evidenciaron, de acuerdo a los datos obtenidos el dormir, probablemente por el ruido, movimiento y cambio de intensidad de luz al que son expuestos los sujetos en la caja de alojamiento al iniciar la sesión.

En concordancia con esto, el comportamiento de descanso fue mínimo; se logró evidenciar en el horario diurno ya que a esta hora presentan menor actividad (Meulen, 2014); sin embargo fueron muy pocas las ocasiones en las que se presentó, posiblemente por estímulos externos como el ingreso al bioterio por parte del personal de investigación y mantenimiento que producen ruido y olores que los motivan a moverse.

No hubo una manifestación de presencia de piloerección y de ojos entrecerrados, lo que disminuye la posibilidad de problemas relacionados con situaciones de estrés crónico que inhiben la conducta normal de acicalamiento de los animales (CCPA, 1998).

Uno de los primeros signos de dolor o de cualquier otro estímulo estresante es la pérdida de peso. Esto se debe a que esos estímulos negativos inhiben el consumo de alimento. En los datos obtenidos hubo un aumento de peso progresivo, indica que los sujetos ganan masa corporal a medida que hay un aumento de edad y crecimiento corporal, lo que es un indicador de desarrollo normal (CCPA, 1998).

Aproximadamente en la mitad de las observaciones se evidencia la presencia de porfirinas y autoaseo. Las porfirinas puede deberse a factores hereditarios, sin embargo, se ven asociadas a factores de estrés (Santoro, 2013). El autoaseo es una conducta normal de acicalamiento lo que minimiza la presencia de piloerección e indica un buen estado del animal (CCPA, 1998), a menos que se produzca de forma repetitiva, pues pueden relacionarse con períodos de conflicto o estrés (Korff & Harvey, 2006). En correlación con los datos obtenidos se puede decir que estos indicadores al no ser predominantes y repetitivos durante las fases de experimentación manifiestan unos niveles moderados de estrés, propios de la manipulación de laboratorio.

Los animales que sufren demuestran un comportamiento exploratorio disminuido y puede aparecer un comportamiento hostil hacia los otros animales (CCPA, 1998) (García, 2012). Si hay dolores abdominales, pueden aparecer contracciones abdominales y movimientos lentos. El dolor puede aumentar con la locomoción (CCPA, 1998) por lo que el desplazamiento es lento y se asocia con obstrucción intestinal o ascitis (García, 2012). Se puede observar una cojera de un miembro o simplemente un paso cuidadoso. El animal puede moverse en círculo cuando su equilibrio está perturbado (CCPA, 1998). En contraste con esto en la fase de observación se evidenciaron constantemente levantamientos y cruces, comportamientos asociados a locomoción y exploración, lo que indica que no hay señales de síntomas de este tipo, sino una actividad propia de los sujetos (García, 2012).

Los levantamientos se evidencian en mayor medida en los horarios nocturnos, lo que puede deberse a que la fase de actividad de las ratas inicia en estos horarios (Meulen, 2014), el

comportamiento exploratorio asociado al número de cruces, se ve activo en el horario diurno aunque disminuye a medida que aumentan el número de observaciones, esto puede deberse a que en las primeras fases de experimentación los sujetos fueron estimulados con pellets de azúcar lo que pudo provocar una mayor actividad.

9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El objetivo de este proyecto fue determinar el comportamiento y bienestar de ratas Wistar en su alojamiento en el ciclo de luz normal, mientras se encontraban bajo procedimiento de renovación de la respuesta condicionada de palanqueo.

En general, los parámetros de comportamiento y locomoción como lo son los levantamientos, cruces y autoaseo se encuentran dentro de los niveles normales de conducta propios de la especie lo que indica un buen nivel de bienestar (CCPA, 1998) (García, 2012), aunque uno de los aspectos que pudo dificultar la comparación de estos comportamientos en los horarios nocturnos con respecto a los diurnos, atañe a que en ocasiones las observaciones coincidían con el momento de alimentación de los sujetos, lo que provocaba una disminución de sus movimientos al dedicarse a alimentarse, se sugiere tener en cuenta los itinerarios de estos procedimientos para que no afecte el uno sobre el otro.

El descanso y dormir no se evidenciaron en la mayoría de las observaciones a pesar de encontrarse las ratas en su horario de inactividad (Meulen, 2014), esto debido a dos factores; el primero, los estímulos externos provocados por las operaciones que se llevan a cabo habitualmente en el horario diurno en los laboratorios y en el bioterio, de acuerdo a esto se puede plantear la hipótesis de que la reversión del ciclo de luz puede favorecer las etapas de sueño y descanso de las ratas ya que disminuirían los procedimientos realizados en el bioterio y no habrían factores que interrumpieran estos periodos. El segundo por el estímulo de movimiento realizado en las cajas de alojamiento al iniciar las sesiones para poder evidenciar los parámetros de locomoción. Por tanto se recomienda empezar la observación de indicadores de bienestar antes de realizar un estímulo externo.

Cuando los organismos, incluyendo el ser humano, son aislados del contacto directo de señales periódicas ambientales, estos ritmos son capaces de continuar oscilando periodicidad

cercana a 24 h, indicando la existencia de un mecanismo endógeno compuesto de uno o varios relojes responsables de la ritmicidad biológica- (Mendoza, 2009)El NQS funciona como un marcapasos que a su vez se sincroniza con los relojes periféricos. Así, influye en múltiples órganos como el hígado, el corazón, los pulmones y los riñones.(Meulen, 2014). Adicionalmente los períodos de sueño pueden estar perturbados y aumentarán si el dolor o la angustia persisten. Al presentarse una fase de sueño interrumpida al evaluar el comportamiento de las ratas Wistar en su fase nocturna, como se evidencia en este trabajo teórico practico, se pueden desencadenar a largo plazo enfermedades que afecten a los sujetos o perjudicar el rendimiento y los resultados que se podrían obtener de una forma más veraz si se evaluaran en la fase de actividad. (Meulen, 2014)

Los glucocorticoides se liberan durante la fase activa del animal. Los glucocorticoides tienen muchas funciones diferentes en la homeostasis y el estrés. La mayoría de las funciones son para maximizar la capacidad para hacer frente a un factor de estrés (con epinefrina y norepinefrina). Por ejemplo, los glucocorticoides conducen a un aumento del tono cardiovascular, la concentración de la energía a los músculos (para luchar o huir), la inhibición de la fisiología de la reproducción y el apetito, el aumento de las tasas de perfusión cerebral y la cognición agudizada (Meulen, 2014). Al no manifestarse indicadores de como la presencia de piloerección y de ojos entrecerrados, no hay una asociación a estos factores lo que descarta sintomatologías propias de estrés crónico, enfermedades oculares e intestinales.

Por otra parte la función metabólica de los glucocorticoides es aumentar la concentración de glucosa mediante la estimulación de la gluconeogénesis en el hígado, la movilización de aminoácidos, la inhibición de la captación de glucosa por los músculos y los tejidos adiposos y estimulan descomposición de las grasas, confrontando esto con los resultados del indicador de peso; el aumento progresivo y normal de la masa corporal de las ratas, indica un buen estado del animal. Sin embargo la presencia de porfirinas pueden verse asociadas a factores de estrés, se sugiere tener en cuenta este aspecto en la reversión del ciclo de luz, para determinar la fase en la que los sujetos experimentales están expuestos a mayores niveles de estrés, y los indicadores de locomoción y exploración para comparar en cuál de estos dos momentos (el ciclo normal de luz y el ciclo de luz invertido) hay una actividad más acorde a las desarrolladas de forma típica por las ratas Wistar.

BIBLIOGRAFÍA

- 2009 *Bienestar animal* Córdoba, España Universidad de Córdoba
- Bouton, M. E., & King, D. A. (1983). Contextual control of the extinction of conditioned fear: Tests for the associative value of the context. . *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior* .
- Bouton, M. E., & Todd, T. P. (2014). A fundamental role for context in instrumental learning and extinction. . *Behavioural Processes* .
- Bouton, M. E., Kenney, F. A., & Rosengard, C. (1990). State-dependent fear extinction with two benzodiazepine tranquilizers. *Behavioral Neuroscience* .
- Bouton, M. E., Winterbauer, N. E., & Todd, T. (2012). Relapse processes after the extinction of instrumental learning: renewal, resurgence, and reacquisition. . *Behavioural Processes* .
- Cassone, V., Chesworth, M., & Armstrong, S. (1986). Entrainment of rat circadian rhythms by daily injections of melatonin depends upon the hypothalamic suprachiasmatic nuclei. *Physiol Behavior* .
- CCPA 1998 *Control del dolor animal en la investigación, la enseñanza y pruebas*
- Clénet, F., Bouyon, E., Hascoët, M., & Bourin, M. (2006). Light/dark cycle manipulation influences mice behaviour in the elevated plus maze. .
- 2012 *Conceptos Básicos para el Diseño de un Estabulario Universitario* Valencia, España Universidad Politecnica de Valencia
- 2013 *Cuidados con las ratas, ratones y conejos durante la experimentación animal* Sao Paulo, Brasil Instituto Butantan (CEUAIB)
- Davidson, A. J., Sellix, M. T., Yamazaki, S., Menaker, M., & Block, G. D. (2006). Chronic jet-lag increases mortality in aged mice. *Current Biology* .
- Díaz-Negrillo, A. (2013). *Bases bioquímicas implicadas en la regulación del*. Mexico. Efectos sobre la actividad nociceptiva de la rata de un péptido nootrópico sintético 2008 *Revista Latinoamericana de Psicología*
- Erren, T., Reiter, R., & Piekarski, C. (2003). Light, timing of biological rhythms, and chronodisruption in man. . *Naturwissenschaften* .
- García, B. M. (2004). *Ritmos circadianos y neurotransmisores: Estudios en la corteza prefrontal de la rata*. Madrid, España.
- Mendoza, J. (2009). *Neurobiología del sistema circadiano*. Strasbourg.
- Meulen, V. d. (2014). The effects of switching light-dark regime on the behavior of Wistar rats.
- Modelos animales del trastorno obsesivo-compulsivo: fundamentos para comprender la psicobiología y la farmacología 2006 *CLÍNICAS PSIQUIÁTRICAS DE NORTEAMÉRICA* 376
- Moore, R. (1999). Circadian timing. . *Fundamental Neuroscience*.
- Moore, R. Y., Speh, J. C., & Leak, R. K. (2002). Suprachiasmatic nucleus organization. *Cell and Tissue Research* .
- 2011 *Posible papel de la melatonina en la inducción de obesidad por dieta hipercalórica: efectos metabólicos en ratas macho* Madrid, España Universidad Computense de Madrid
- Raúl Aguilar-Roblero, P. G. (2004). *El núcleo supraquiasmático y la glándula pineal en la regulación de los ritmos circadianos en roedores* . Mexico.
- Reiter, R. (1993). The melatonin rhythm: both clock and calendar. *Experientia* .
- Ritmo circadiano: el reloj maestro. Alteraciones que comprometen el estado de sueño y vigilia en el área de la salud 2013 *Morfología* 17
- Silver, R., & Schwartz, W. J. (2005). The suprachiasmatic nucleus is a functionally heterogeneous timekeeping organ. .
- Vanecek, J. (1998). Cellular mechanisms of melatonin action. .