

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS
LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACEÚTICA BIOLÓGICA

INFORME DE CONCLUSIÓN DE SERVICIO SOCIAL

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN NEONATAL DE MK-801 Y DE LA VULNERABILIDAD
AL ESTRÉS SOBRE LA SEPARACIÓN DE PATRONES

PRESENTA:

LÓPEZ GONZÁLEZ ITZEL

MATRICULA: 2213057840

V.º B.º ASESOR INTERNO



DR. BARRANCO FLORIDO JUAN ESTEBAN

NO.ECO.24927

V.º B.º ASESORA EXTERNA



DRA. LÓPEZ RUBALCAVA CAROLINA

NO. CÉDULA 1648646

REALIZADO EN EL LABORATORIO 17 UBICADO EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE
ESTUDIOS AVANZADOS DEL IPN, SEDE SUR, DURANTE EL PERIODO COMPRENDIDO ENTRE
27 DE FEBRERO DEL 2026 AL 27 DE AGOSTO DEL 2026

CIUDAD DE MÉXICO A 27 DE AGOSTO DEL 2026

Tabla de contenido

1.	Introducción	3
2.	Justificación.....	4
3.	Hipótesis	5
4.	Objetivo general:.....	5
4.1	Objetivos específicos	5
5.	Materiales y métodos	6
5.1	Animales	6
5.2	Modelo experimental tipo esquizofrenia	7
5.3	Ovariectomía.....	7
5.4	Registro del ciclo estral mediante frotis vaginal	8
5.5	Prueba de separación de patrones	8
5.6	Procedimiento del análisis estadístico	9
6.	Resultados y discusión	9
6.1	Wistar	10
6.2	Wistar Kyoto	13
7.	Objetivos y metas alcanzadas	15
8.	Conclusión	16
9.	Perspectivas futuras y recomendaciones.....	16
10.	Bibliografía.....	17

1. Introducción

La esquizofrenia es un trastorno neuropsiquiátrico complejo caracterizado no solo por la presencia de síntomas positivos y negativos, sino también por alteraciones cognitivas persistentes, entre las que destacan los déficits en la memoria y en el procesamiento de la información espacial (Lewis y Lieberman, 2000; Barch y Ceaser, 2012). Estas alteraciones cognitivas aparecen tempranamente, pueden preceder a la manifestación clínica del trastorno y se asocian con disfunciones en circuitos hipocampales involucrados en la codificación y discriminación de experiencias similares (Heckers y Konradi, 2015). En este contexto, el estrés se reconoce como un factor ambiental clave, que puede modular la severidad de los déficits cognitivos observados en la esquizofrenia (Walker et al., 2008).

La memoria espacial depende en gran medida del hipocampo y, de forma más específica, de la capacidad de "separación de patrones", proceso mediante el cual estímulos altamente similares se transforman en representaciones neuronales distintas para evitar interferencias entre memorias (Yassa y Stark, 2011). Esta función se asocia principalmente con la actividad del giro dentado y sus conexiones dentro del circuito hipocampal (Aimone et al., 2011). Diversos estudios han demostrado que la separación de patrones se encuentra alterada en pacientes con esquizofrenia, así como en modelos animales del trastorno, lo que la convierte en una herramienta conductual sensible para evaluar disfunciones cognitivas de origen hipocampal (Tamminga et al., 2012; Das et al., 2014). Esta mayor vulnerabilidad al estrés puede afectar especialmente al giro dentado, una región hipocampal sensible a los glucocorticoides y fundamental para la separación de patrones. La exposición elevada o prolongada a glucocorticoides puede modificar la plasticidad sináptica, la excitabilidad neuronal y la neurogénesis del giro dentado, procesos necesarios para generar representaciones diferenciadas de experiencias similares. En consecuencia, una mayor vulnerabilidad al estrés podría reducir la eficiencia de la separación de patrones y aumentar la interferencia entre representaciones espaciales similares. Por ello, la comparación entre ratas Wistar y WKY permite evaluar si las diferencias basales en la reactividad al estrés que se asocian con diferencias en este proceso cognitivo.

En modelos animales, el uso de distintas cepas de ratas ha permitido estudiar la influencia de la vulnerabilidad al estrés sobre la función cognitiva. Las ratas Wistar Kyoto (WKY) presentan un fenotipo caracterizado por una mayor reactividad al estrés, conductas de tipo ansioso-depresivo y alteraciones en la neurogénesis hipocampal, en comparación con las ratas Wistar, consideradas una cepa control de la WKY (Pare y Redei, 1993; Janke et al., 2004). Estas diferencias hacen que la comparación entre ambas cepas resulte particularmente útil para analizar cómo la vulnerabilidad al estrés modula procesos cognitivos como la memoria espacial y la separación de patrones, especialmente en modelos relacionados con trastornos psiquiátricos.

Por otra parte, la esquizofrenia presenta diferencias relevantes entre los sexos, tanto en la edad de inicio como en la expresión de los síntomas cognitivos (Abel et al., 2010). En ratas

hembra, las hormonas sexuales influyen de manera significativa sobre la función hipocampal y la memoria espacial. Estudios en ratas han demostrado que la ovariectomía altera el desempeño en tareas de memoria espacial y modifica la plasticidad sináptica y la neurogénesis en el hipocampo, lo que sugiere que la ausencia de hormonas ováricas puede aumentar la vulnerabilidad a déficits cognitivos (Daniel y Bohacek, 2010; Frick et al., 2015). Por ello, la evaluación de animales ovariectomizados y no ovariectomizados permite analizar de manera directa la contribución hormonal en modelos de alteración cognitiva.

En este contexto, el fármaco MK-801 ha sido ampliamente utilizado como una herramienta farmacológica para inducir conductas tipo esquizofrenia persistentes cuando se administra durante etapas tempranas del desarrollo. La administración neonatal de MK-801 produce déficits duraderos en tareas de memoria y aprendizaje dependientes del hipocampo, que emergen en etapas posteriores de la vida y reproducen aspectos cognitivos relevantes del modelo animal de esquizofrenia (Harris et al., 2003; Stefani y Moghaddam, 2005). Además, se ha reportado que los efectos conductuales de esta manipulación pueden variar en función del sexo y de la vulnerabilidad al estrés, lo que refuerza la importancia de evaluarlos en hembras y en cepas con diferentes perfiles de reactividad al estrés (Bubenikova-Valesova et al., 2008).

La vulnerabilidad al estrés y la reducción de la función glutamatérgica, causadas por la administración neonatal de MK-801, podrían afectar conjuntamente el giro dentado y, por ende, la separación de patrones. Una mayor reactividad al estrés aumenta la exposición a glucocorticoides, lo que puede perjudicar la plasticidad del hipocampo. Por otro lado, el bloqueo temprano de los receptores NMDA puede alterar la maduración y el funcionamiento de los circuitos glutamatérgicos necesarios para codificar y diferenciar la información espacial. La combinación de ambos factores podría incrementar el riesgo de presentar déficits en la separación de patrones.

Con base en lo anterior, el presente proyecto analizará el efecto de la administración neonatal de MK-801 sobre la memoria espacial, utilizando el modelo de separación de patrones en ratas hembra de las cepas Wistar y Wistar Kyoto, con y sin ovariectomía. Para ello, se evaluará el efecto sobre la memoria espacial en una prueba de separación de patrones estandarizada, considerando configuraciones espaciales específicas que permiten detectar cambios reales en la discriminación de estímulos similares. De esta manera, el estudio permitirá determinar cómo la vulnerabilidad al estrés, la manipulación farmacológica temprana y la presencia o ausencia de hormonas ováricas interactúan en la modulación de la memoria espacial, aportando evidencia relevante para comprender los déficits cognitivos asociados a la esquizofrenia en hembras.

2. Justificación

Los déficits cognitivos en la esquizofrenia, especialmente los relacionados con la memoria, constituyen un área de gran relevancia científica y clínica, ya que dichas alteraciones se

asocian directamente con el deterioro funcional y la disminución de la calidad de vida de las personas con este trastorno. En particular, las alteraciones de la memoria espacial y de la capacidad de separación de patrones se han identificado como componentes centrales del deterioro cognitivo, que no responden de manera efectiva a los tratamientos farmacológicos actuales. Por ello, resulta necesario desarrollar y validar modelos experimentales que permitan comprender los factores que modulan estas alteraciones cognitivas.

En este estudio, la administración neonatal de MK-801 permite evaluar cómo una alteración temprana de la neurotransmisión glutamatérgica afecta la cognición. La comparación entre ratas Wistar y Wistar-Kyoto permite analizar el papel de la vulnerabilidad al estrés. Además, al incluir hembras intactas y ovariectomizadas (OVX), se permite estudiar la influencia de la condición hormonal. Estos factores pueden afectar la plasticidad y el funcionamiento del hipocampo relacionados con la separación de patrones, por lo que analizarlos en conjunto ofrece una visión más completa de los posibles determinantes de los déficits cognitivos.

Así, este estudio permitirá determinar si la vulnerabilidad al estrés y la condición hormonal modifican los efectos de la administración neonatal de MK-801 sobre la separación de patrones espaciales. Comparar estas condiciones ayudará a entender cómo interactúan los factores neurobiológicos y de vulnerabilidad individual en la aparición de alteraciones cognitivas dependientes del hipocampo.

3. Hipótesis

La condición de estrés y la condición hormonal modificaran el desempeño de los animales en el modelo de separación por patrones

4. Objetivo general:

Evaluar la influencia de la vulnerabilidad al estrés y de la condición hormonal sobre las alteraciones en la separación de patrones espaciales inducidas por la administración neonatal de MK-801 en ratas Wistar y Wistar-Kyoto.

4.1 Objetivos específicos

1. Comparar la capacidad de separación de patrones espaciales entre ratas Wistar y Wistar-Kyoto intactas, con el fin de identificar posibles diferencias asociadas con la vulnerabilidad basal al estrés.
2. Evaluar el efecto de la ovariectomía sobre la separación de patrones espaciales en ratas Wistar y Wistar-Kyoto, para determinar la influencia de la condición hormonal en este proceso cognitivo.
3. Evaluar el efecto de la administración neonatal de MK-801 sobre la separación de patrones espaciales en ratas Wistar y Wistar-Kyoto intactas, para determinar si la

vulnerabilidad al estrés modifica las alteraciones cognitivas inducidas por esta manipulación farmacológica.

4. Determinar si la ovariectomía modifica el efecto de la administración neonatal de MK-801 sobre la separación de patrones espaciales en ratas Wistar y Wistar-Kyoto, considerando las diferencias en la vulnerabilidad al estrés entre ambas cepas.

5. Materiales y métodos

5.1 Animales

Se utilizaron ratas hembra de las cepas Wistar y Wistar Kyoto (WKY). Ambas cepas permanecieron con sus madres durante el periodo de lactancia y fueron alojadas en condiciones controladas de temperatura (23 ± 1 °C), humedad relativa y un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12 horas (encendido de luces a las 22:00 h), con acceso libre a alimento estándar y agua.

Posteriormente, los animales de cada cepa fueron distribuidos aleatoriamente en cuatro grupos experimentales:

Grupo control tratado con solución salina al 0.9 % sin ovariectomía con una n=8 para la cepa Wistar y una n=8 para la cepa WKY

Grupo control OVX, tratado con solución salina al 0.9 % con ovariectomía con una n=12 para la cepa Wistar y una n=11 para la cepa WKY

Grupo MK, tratado con MK-801 para inducir un modelo experimental con características semejantes a la esquizofrenia sin ovariectomía con una n= 7 para la cepa Wistar y una n=6 para la cepa WKY

Grupo MK OVX, tratado con MK-801 para inducir un modelo experimental con características semejantes a la esquizofrenia con ovariectomía con una n=15 para la cepa Wistar y una n=8 para la cepa WKY.

Todos los procedimientos experimentales se llevaron a cabo de conformidad con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, referente a las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. Asimismo, los protocolos fueron aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL; protocolos 0272-18 y 0273-18), siguiendo las recomendaciones establecidas en la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals de los National Institutes of Health (NIH, Estados Unidos).

5.2 Modelo experimental tipo esquizofrenia

Para inducir un modelo experimental semejante a la esquizofrenia, las crías recibieron un tratamiento subcrónico con el antagonista no competitivo del receptor NMDA MK-801 durante cinco días consecutivos.

Desde el día postnatal 7 (PD7) hasta el PD11, los animales del grupo experimental recibieron MK-801 a una dosis de 0.2 mg/kg, administrado por vía subcutánea (s.c.) en un volumen de 2 mL/kg, mientras que los animales del grupo control recibieron el mismo volumen de solución salina al 0.9 %.

Este periodo neonatal corresponde aproximadamente al segundo trimestre tardío del desarrollo gestacional humano y ha sido ampliamente utilizado para inducir alteraciones neuroanatómicas, neuroquímicas y conductuales similares a las observadas en pacientes con esquizofrenia (Clancy et al., 2001; Griego et al., 2022). Finalizado el tratamiento, las crías permanecieron bajo cuidado materno hasta el día postnatal 21 (PD21), momento en el que fueron destetadas.

5.3 Ovariectomía

La ovariectomía se realizó en ratas hembras, asignadas al grupo OVX en el día PD120 con un peso corporal de 200–300 g. El procedimiento se realizó bajo anestesia general con tribromoetanol, administrado por vía intraperitoneal a una dosis de 10 ml/kg.

Previamente al procedimiento, se rasuró la región caudal del abdomen, a nivel de la zona donde se inicia la región de las extremidades posteriores. Posteriormente, se realizó una incisión longitudinal en la línea media de la región abdominal inferior, atravesando la piel y el tejido subyacente hasta acceder a la cavidad abdominal. Se retiró cuidadosamente el tejido adiposo localizado en la región caudal del peritoneo, que se utilizó como referencia anatómica para la localización de los ovarios.

Una vez identificados los oviductos, se exteriorizaron cuidadosamente hasta localizar los ovarios. Cada ovario fue expuesto sobre una superficie estéril colocada en la región abdominal para evitar el contacto directo de los tejidos con la superficie corporal del animal. Posteriormente, se realizó una ligadura en la región proximal del oviducto, a nivel de la bifurcación anatómica, con el propósito de controlar el sangrado y evitar la pérdida de sangre durante la resección. Después de asegurar la ligadura, el tejido ovárico fue seccionado distal al punto de ligadura y retirado.

Finalmente, se verificó la ausencia de hemorragia y se procedió al cierre quirúrgico mediante sutura independiente de los planos interno y externo. Una vez concluido el procedimiento, los animales fueron colocados en una caja limpia y mantenidos en condiciones de recuperación térmica mediante una fuente de calor, hasta recuperar la movilidad y las condiciones fisiológicas posteriores a la anestesia.

Transcurridas las tres semanas de recuperación, se realiza una inspección visual del estado de la rata. No se incluyeron animales que presentaran signos de infección tras la operación.

5.4 Registro del ciclo estral mediante frotis vaginal

Con el objetivo de determinar la fase del ciclo estral de las ratas y controlar la influencia de las variaciones hormonales sobre las pruebas conductuales, se realizó el registro citológico del ciclo estral mediante la técnica de frotis vaginal, siguiendo la metodología descrita por Marcondes et al. (2002)

Las muestras se obtuvieron diariamente mediante el lavado del canal vaginal con aproximadamente 20–50 μ L de solución salina estéril (0.9 % NaCl), utilizando una micropipeta, sin introducirla profundamente para evitar estimular el cuello uterino. Posteriormente, el contenido se colocó sobre un portaobjetos, se dejó secar al aire y se observó al microscopio óptico.

La fase del ciclo estral se determinó con base en la proporción de células epiteliales nucleadas, células epiteliales cornificadas y leucocitos, y se clasificó a cada animal en una de las cuatro fases del ciclo: proestro, estro, metaestro y diestro.

El monitoreo se realizó diariamente antes de las pruebas conductuales para asegurar que los animales fueran evaluados en la fase correspondiente del ciclo estral.

5.5 Prueba de separación de patrones

La capacidad de separación de patrones se evaluó mediante la prueba Object Pattern Separation (OPS), descrita previamente por Van Goethem y colaboradores, la cual permite valorar la función del giro dentado (GD) del hipocampo. Es importante recalcar que esta prueba se realizó al PD140.

Previo a las evaluaciones conductuales, los animales fueron manipulados durante cinco días consecutivos, dos veces al día, durante 2 a 3 minutos, con la finalidad de reducir el estrés asociado al manejo experimental.

Las pruebas se realizaron en una arena circular de 83 cm de diámetro y 40 cm de altura, con paredes grises, ubicada en una sala iluminada con luz roja para minimizar los estímulos externos.

La evaluación constó de dos fases. En la fase de aprendizaje, cada animal exploró durante 3 minutos dos objetos idénticos colocados a 40 cm entre sí. Posteriormente, tras un intervalo de 1 hora, se llevó a cabo la fase de prueba, con una duración de 3 minutos. En esta segunda fase, uno de los objetos permaneció fijo en su posición original, mientras que el otro fue desplazado a una de las tres posiciones previamente establecidas, separadas entre sí por intervalos de 6 cm. Así, la posición 1 correspondió a un desplazamiento nulo y la posición 3 al desplazamiento máximo.

El desempeño de los animales se cuantificó mediante el Índice de Discriminación (ID), calculado con la ecuación 1.

$$ID = \frac{(\text{tiempo de exploración del objeto desplazado} - \text{tiempo de exploración del objeto estacionario})}{\text{tiempo total de exploración de ambos objetos}}$$

Ecuación 1. Ecuación utilizada para cuantificar el Índice de discriminación (ID), que consiste en dividir el tiempo de exploración del objeto móvil por el tiempo de exploración del objeto estacionario, y luego dividir ambos resultados entre el tiempo total de exploración de ambos objetos.

Con el fin de evaluar la capacidad de discriminación a cada distancia de desplazamiento, todos los animales fueron sometidos a múltiples sesiones de la prueba, dejando un intervalo de dos días entre cada evaluación. Para evitar efectos derivados de la familiarización con los objetos, en cada sesión se empleó un nuevo par de objetos idénticos, manteniendo el mismo par para todos los animales evaluados ese día.

La prueba conductual fue videograbada para su análisis posterior. El registro y cuantificación de las conductas se realizaron por un evaluador que desconocía la condición experimental y el tratamiento asignado a cada animal.

5.6 Procedimiento del análisis estadístico

La recopilación y organización iniciales de los datos experimentales se realizaron mediante el programa Microsoft Excel. Los datos obtenidos fueron posteriormente transferidos a SigmaPlot para su análisis estadístico y representación gráfica.

Para determinar las diferencias entre las posiciones evaluadas en la prueba de separación de patrones se empleó una prueba *t* de Student para muestras independientes, de dos colas (*two-tailed t-test*), de acuerdo con las comparaciones establecidas entre las posiciones 2 y 3. Adicionalmente, para evaluar de manera simultánea el efecto de los factores experimentales sobre el desempeño en la prueba, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de tres vías, considerando como factores el tratamiento, el estado hormonal/ovariectomía y la posición del objeto.

En todos los análisis estadísticos se consideraron estadísticamente significativos los resultados con un valor de $p < 0.05$. Los resultados se expresaron como media $\pm$ error estándar de la media (EEM). Las gráficas y los análisis estadísticos se realizaron con SigmaPlot.

6. Resultados y discusión

Para evaluar la memoria espacial mediante la prueba de separación de patrones por objetos, descrita por Van Goethem (citar correctamente), se comparó el índice de discriminación (ID) obtenido en las posiciones 3 y 5 correspondientes a un grado medio y alto de desplazamiento espacial del objeto respecto a su ubicación basal (posición 1). De acuerdo con Márquez García (2024), las posiciones 3 y 5 fueron las reportadas como más discriminativas dentro de este paradigma. Un ID mayor en P5 respecto a P3, refleja una mayor capacidad de separación

de patrones espaciales, por lo que el animal distingue con mayor claridad la ubicación con mayor grado de separación métrica.

6.1 Wistar

En primera instancia se realizaron las gráficas correspondientes en el programa Sigmaplot, para observar su comportamiento a lo largo de los días, al igual que evaluar cómo los distintos tratamientos actuaban en la manera en que el animal discriminaba entre las distintas posiciones.

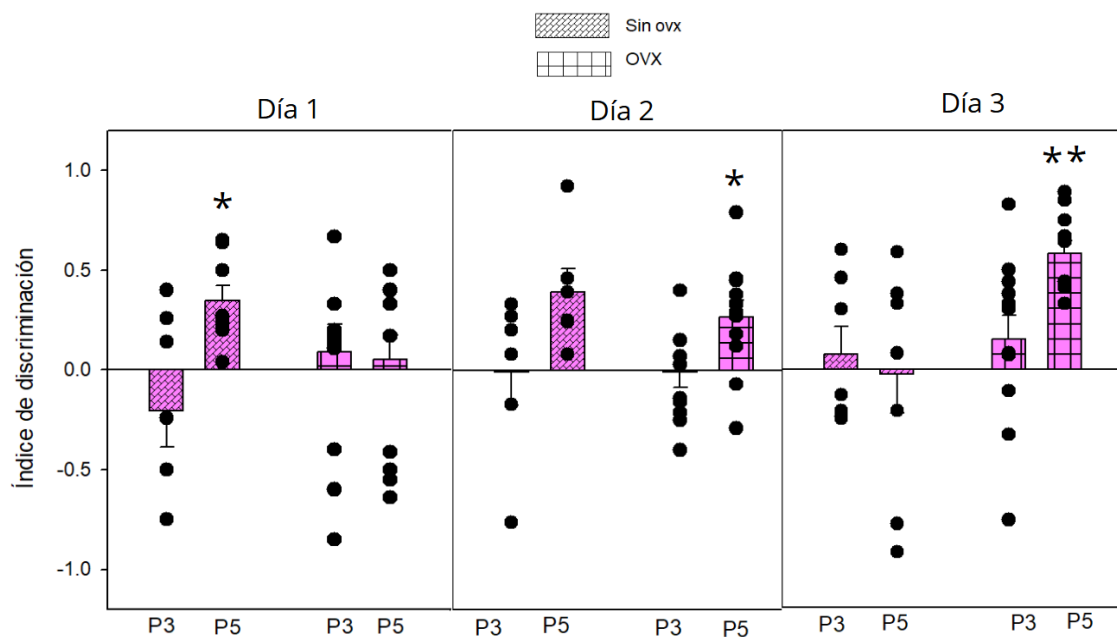


Figura 1. Índice de discriminación en la prueba de separación de patrones de objetos del día 1, día 2 y día 3 en ratas tratadas con solución salina, con y sin ovariectomía (OVX). Se muestran los valores correspondientes a las posiciones 3 (P3) y 5 (P5) del objeto desplazado. Los datos se expresan como media $\pm$ EEM, $n = 8$ sin OVX; $n = 12$ OVX. Para las comparaciones entre las posiciones P3 y P5 dentro de cada grupo se empleó una prueba t de Student bilateral (two-tailed) * $p < 0.01$, ** $p < 0.001$

En la figura 1, se observa que las ratas sin ovariectomía discriminaron significativamente entre la P3 y P5 ($p = 0.0119$), lo que indica que, desde la primera exposición, estos animales identificaron la posición con mayor desplazamiento espacial como la más "novedosa". Esta capacidad se mantuvo como tendencia en el día 2 ($p = 0.0804$), sin embargo, dejó de ser evidente en el día 3, sin diferencia significativa entre posiciones. Una explicación plausible con lo observado durante la prueba es que el objeto utilizado el día 3 fue el mismo que el del día 1; al no representar una fuente de novedad, es posible que las ratas redujeran su exploración dirigida por curiosidad, enmascarando su capacidad real de separación espacial. Esto resalta una limitación importante del diseño: la reutilización del objeto entre el día 1 y el 3 confunde la habituación a la novedad con el desempeño mnemónico propiamente dicho, por lo que la caída de discriminación en el día 3 debe leerse más como una saturación de la novedad que como una falla de memoria espacial.

Por otro lado, en las ratas con ovariectomía, el patrón temporal de este subgrupo fue distinto: en el día 1 no se observó discriminación significativa a favor de P5, la tendencia visual sugiere, incluso, mayor exploración relativa en P3, es decir, lo opuesto a lo esperado si el mayor desplazamiento debiera generar mayor interés exploratorio. Para el día 2 esta tendencia se revirtió y la diferencia entre P3 y P5 se volvió significativa ($p = 0.0293$), fortaleciéndose aún más el día 3 ($p = 0.00771$). En otras palabras, las ratas OVX mostraron una curva de aprendizaje: partieron de un desempeño "pobre" o incluso "invertido" y fueron mejorando su separación de patrones conforme se repitió la prueba en distintos días.

El ANOVA es consistente con estas observaciones: el día 2 el único efecto significativo es el de posición ($F = 5.310$, $p = 0.029$), sin interacción con el estatus hormonal ($F \approx 0.00087$, $p = 0.977$), es decir, ambos subgrupos mejoran su discriminación entre posiciones ese día de forma paralela, aunque solo el subgrupo OVX alcanza significancia individual. El día 3, en cambio, el efecto significativo es el de estatus hormonal ($F = 7.787$, $p = 0.009$): para ese punto del protocolo, intactas y OVX difieren claramente en su índice de discriminación general, lo cual es congruente con las trayectorias opuestas descritas arriba. La interacción estatus hormonal $\times$ posición del día 3 ($F = 3.480$, $p = 0.072$) no alcanza significancia convencional, pero su cercanía al umbral sugiere que, con mayor tamaño de muestra, este cruce de trayectorias podría confirmarse estadísticamente.

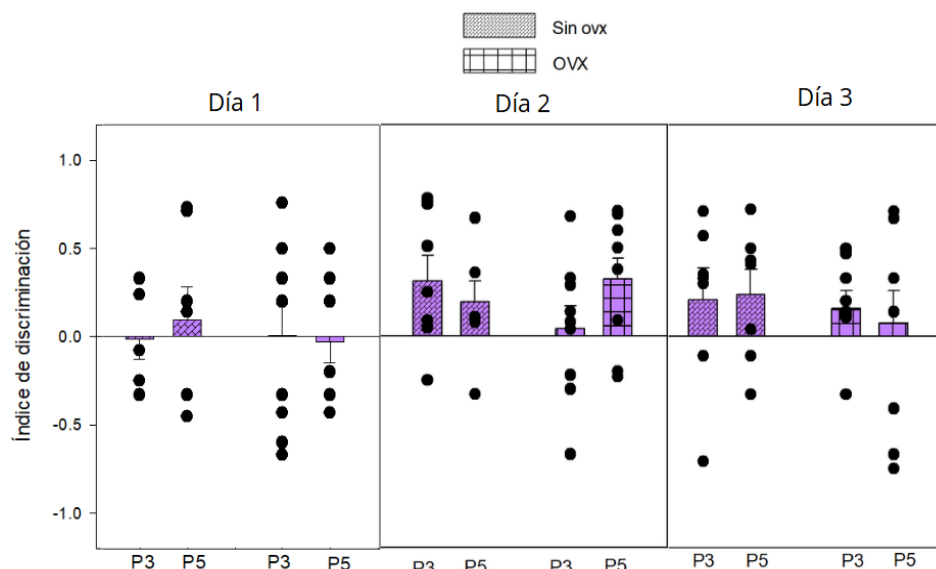


Figura 2. Índice de discriminación en la prueba de separación de patrones de objetos del día 1, día 2 y día 3 en ratas tratadas con solución salina, con y sin ovariectomía (OVX). Se muestran los valores correspondientes a las posiciones 3 (P3) y 5 (P5) del objeto

En conjunto, estos resultados sugieren que la presencia de hormonas ováricas favorece un reconocimiento más temprano, pero menos persistente, al menos bajo un diseño con reutilización del objeto de la separación espacial, mientras que su ausencia retrasa la aparición de esta capacidad, pero permite una consolidación progresiva y más robusta hacia el tercer día. Esto resulta interesante frente a la literatura descrita por Sheppard et al. (2019)

sobre el papel de los estrógenos en la plasticidad sináptica y la neurogénesis del giro dentado, región central en la separación de patrones, aunque la dirección observada (mejor desempeño temprano con hormonas, mejor desempeño tardío sin ellas) no es necesariamente la que se anticiparía de un efecto puramente facilitador de los estrógenos, y merece explorarse más a fondo, por ejemplo relacionando la fase del ciclo estral de las ratas intactas con su desempeño día a día.

A diferencia del grupo control, en el grupo tratado neonatalmente con MK-801, no se encontraron diferencias significativas al realizar el ANOVA de tres vías. Esta ausencia de un patrón definido es un hallazgo relevante: el MK-801 es un antagonista no competitivo de los receptores NMDA cuya administración neonatal se emplea para modelar déficits tipo esquizofrenia, entre ellos alteraciones en la señalización glutamatérgica del giro dentado, necesaria para el desarrollo y funcionamiento normal de los circuitos de separación de patrones. Por lo tanto, la mayor variabilidad y la dificultad para identificar una tendencia estable en este grupo son congruentes con lo esperado de un modelo que compromete precisamente el sustrato neurobiológico de la tarea, más que con una ausencia real de efecto.

Volviendo a la figura 2, en las ratas sin ovariectomía, en los días 1 y 3 (mismo objeto), las ratas parecieron guiarse más por la posición del objeto que por la novedad, sin mostrar discriminación clara entre P3 y P5. En el día 2, en el que se introdujo un objeto novedoso (una lata), el interés de los animales se centró en las características del objeto en sí (múltiples ratas treparon sobre él y lo mordisquearon) más que en su ubicación espacial, por lo que tampoco se observó una discriminación clara por posición. Este patrón de exploración dirigida al objeto más que a su localización podría relacionarse con conductas de tipo perseverativo o con la reactividad exploratoria alterada reportada en modelos farmacológicos de hipofunción NMDA, aunque esta interpretación es tentativa mientras no se cuente con un análisis cuantitativo del tipo de conducta (p. ej., tiempo de exploración clasificado por tipo de contacto).

Mientras que en las ratas ovariectomizadas, el patrón general en este subgrupo también fue de baja discriminación por posición en los días 1 y 3, con una aparente mejoría en el día 2, en el que sí se observó una diferenciación más clara entre P3 y P5. Es decir, el subgrupo OVX-MK-801 muestra, de manera visual, una tendencia parcialmente similar a la de su contraparte con solución salina (mejor desempeño con la repetición de la prueba), aunque esto no se ha podido confirmar estadísticamente.

6.2 Wistar Kyoto

A diferencia de lo observado en la cepa Wistar, en las ratas WKY las gráficas correspondientes no mostraron un patrón de discriminación claro entre las posiciones P3 y P5 en ninguno de los subgrupos (solución salina/MK-801, sin OVX/OVX), por lo que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de las comparaciones realizadas, tal como se muestra en las figuras 3 y 4. Esta ausencia de discriminación se mantuvo de manera consistente durante los tres días de evaluación, independientemente del estatus hormonal o del tratamiento farmacológico recibido.

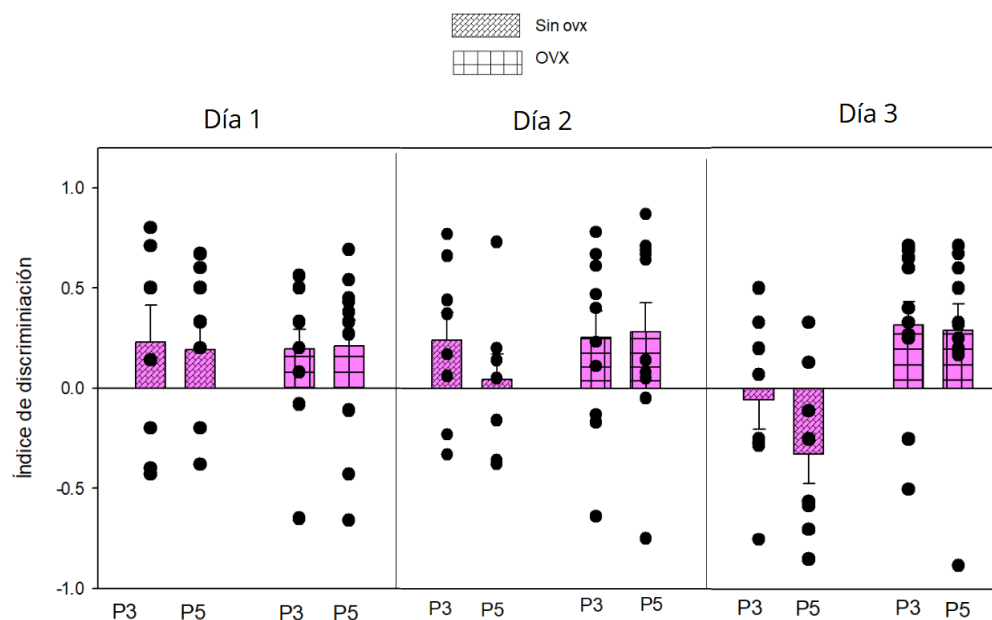


Figura 3 Índice de discriminación en la prueba de separación de patrones de objetos del día 1, día 2 y día 3 en ratas tratadas con solución salina, con y sin ovariectomía (OVX). Se muestran los valores correspondientes a las posiciones 3 (P3) y 5 (P5) del objeto desplazado. Los datos se expresan como media $\pm$ EEM, $n = 8$ sin OVX; $n = 11$ OVX. Para las comparaciones entre las posiciones P3 y P5 dentro de cada grupo se empleó una prueba t de Student bilateral (two-tailed) ns

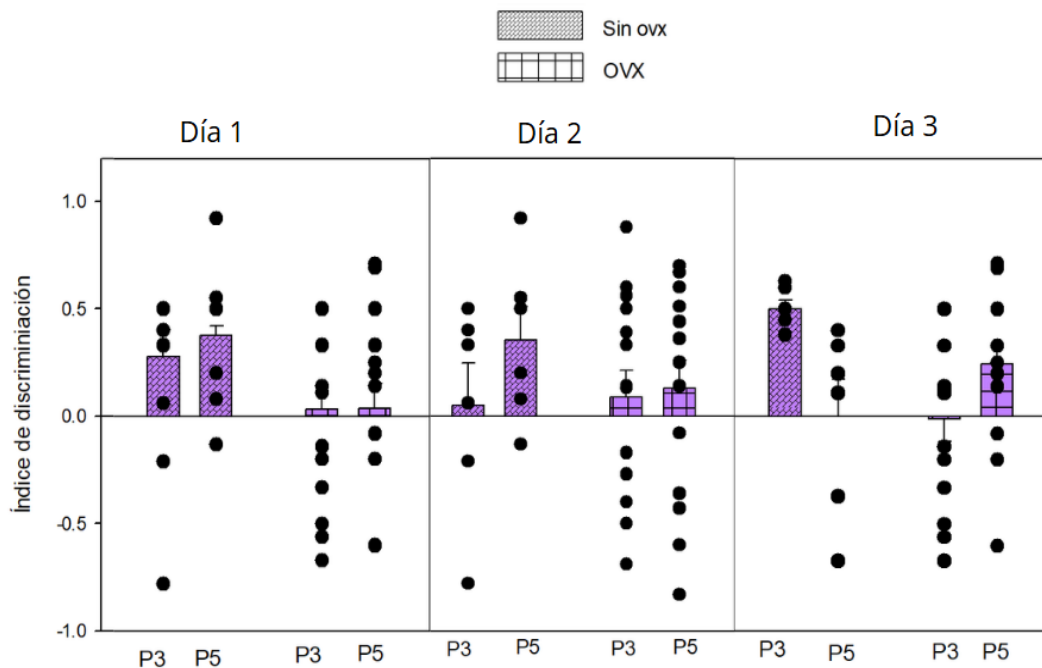


Figura 4 Índice de discriminación en la prueba de separación de patrones de objetos del día 1, día 2 y día 3 en ratas tratadas con solución salina, con y sin ovariectomía (OVX). Se muestran los valores correspondientes a las posiciones 3 (P3) y 5 (P5) del objeto desplazado. Los datos se expresan como media $\pm$ EEM, $n = 6$ sin OVX; $n = 15$ OVX. Para las comparaciones entre las posiciones P3 y P5 dentro de cada grupo se empleó una prueba t de Student bilateral (two-tailed) ns

Para discutir nuestros resultados, es importante señalar que la prueba de separación de patrones de objetos (Object Pattern Separation, OPS) constituye una herramienta conductual utilizada para evaluar la capacidad de los animales para discriminar entre representaciones espaciales similares. Este proceso depende principalmente de la función del hipocampo, particularmente del giro dentado (DG), cuya organización neuronal permite transformar representaciones similares de la información entrante en representaciones suficientemente diferenciadas para evitar la interferencia entre recuerdos.

En este sentido, las diferencias conductuales basales de las WKY pueden dificultar la separación entre un verdadero déficit de memoria espacial y una alteración de la motivación exploratoria o de la respuesta emocional al contexto, si bien la cepa WKY puede presentar un desempeño adecuado en diferentes tareas de aprendizaje y memoria, posee características neurobiológicas y conductuales basales que la diferencian de las ratas Wistar convencionales. En particular, se ha demostrado que las WKY presentan una reducción congénita de la neurogénesis en el giro dentado. Kin et al. (2017) encontraron una disminución significativa de células BrdU+ y BrdU+/DCX+ en el DG de ratas WKY en comparación con ratas Wistar, mientras que no observaron diferencias equivalentes en la zona subventricular.

Por lo tanto, la menor neurogénesis basal observada en las ratas WKY podría representar un factor de confusión para la evaluación conductual de la separación de patrones. Es decir, un bajo desempeño en la OPS no necesariamente reflejaría exclusivamente una alteración

inducida por la manipulación experimental, sino que podría estar parcialmente condicionado por las características neurobiológicas propias de la cepa. Esta consideración es especialmente importante cuando se pretende interpretar la OPS como una medida relacionada con la función del DG, ya que la capacidad de esta estructura para generar representaciones diferenciadas podría haberse modificado desde el estado basal en las WKY (Kin et al., 2017).

A esta consideración se suma el fenotipo conductual característico de las WKY. Esta cepa es ampliamente utilizada como modelo de vulnerabilidad al estrés y de alteraciones afectivas, y presenta diferencias en actividad espontánea y comportamiento exploratorio respecto a otras cepas. Un estudio comparativo reciente encontró que las WKY presentan menor actividad espontánea durante la fase activa en comparación con las ratas Wistar, además de diferencias en diversos parámetros relacionados con la ansiedad y la memoria (Tchekalarova J 2023).

En conjunto, estas características permiten considerar que las ratas WKY no constituyen una cepa inadecuada para estudiar la separación de patrones, pero sí una cepa que puede presentar limitaciones al utilizar la OPS como una medida aislada de la función del giro dentado. La reducción basal de la neurogénesis hipocampal descrita en esta cepa, junto con sus características conductuales particulares, puede disminuir la capacidad para distinguir entre un déficit específico de separación de patrones y alteraciones generales de exploración, actividad o procesamiento hipocampal. Por esta razón, los resultados obtenidos deben interpretarse considerando el fenotipo basal de la cepa y no únicamente en función de las diferencias observadas entre los grupos experimentales.

7. Objetivos y metas alcanzadas

Durante el desarrollo del proyecto se logró cumplir con el objetivo general de evaluar la influencia de la vulnerabilidad al estrés y de la condición hormonal sobre la separación de patrones espaciales en ratas hembra Wistar y Wistar-Kyoto. Para ello, se estableció y aplicó el modelo experimental propuesto, considerando como variables la administración neonatal de MK-801 y la condición hormonal. Se completó el seguimiento de los animales, incluyendo la ovariectomía y el registro del ciclo estral en los grupos correspondientes, así como la evaluación conductual mediante la prueba de separación de patrones de objetos.

Asimismo, se alcanzaron los objetivos relacionados con la comparación del desempeño entre las cepas Wistar y Wistar-Kyoto y con la evaluación de la influencia de la condición hormonal sobre la separación de patrones. Se obtuvo y organizó la información conductual correspondiente a las diferentes condiciones experimentales y se realizó su análisis estadístico mediante pruebas t de Student y ANOVA de tres vías, permitiendo evaluar el efecto del tratamiento, la condición hormonal y la posición del objeto sobre el desempeño de los animales.

En cuanto a la evaluación de los efectos de la administración neonatal de MK-801 y de su posible interacción con la condición hormonal y la vulnerabilidad al estrés, los resultados obtenidos permitieron establecer el alcance de estos factores bajo las condiciones experimentales empleadas. Finalmente, se logró realizar una caracterización inicial de la respuesta de ambas cepas en la prueba de separación de patrones, así como identificar las principales variables que deben considerarse para la interpretación de este paradigma. De esta manera, el proyecto permitió cumplir con las metas experimentales y analíticas planteadas y establecer bases metodológicas para continuar con el estudio de los efectos cognitivos asociados con la administración neonatal de MK-801.

8. Conclusión

Los resultados obtenidos muestran que la separación de patrones espaciales en ratas hembra está influida por las características propias de la cepa y por la condición hormonal. En las ratas Wistar, la condición hormonal modificó el desempeño a lo largo de las sesiones, mientras que en las WKY no se observó un patrón de discriminación consistente, lo que resalta la importancia del fenotipo basal de la cepa para la interpretación de esta tarea. Por otra parte, la administración neonatal de MK-801 no produjo alteraciones estadísticamente significativas en la separación de patrones bajo las condiciones evaluadas, ni se obtuvo evidencia suficiente de que la ovariectomía modificara específicamente este efecto.

En conjunto, los hallazgos indican que la separación de patrones no puede interpretarse de manera independiente de las condiciones biológicas del modelo. La cepa y el estado hormonal representan variables relevantes para su evaluación, mientras que el efecto del MK-801 sobre este proceso no pudo establecerse de forma concluyente mediante el paradigma empleado. Estos resultados aportan elementos para una mejor caracterización de los factores que pueden modificar la evaluación de procesos cognitivos dependientes del hipocampo en modelos experimentales de alteraciones tipo esquizofrenia.

Con base en estos hallazgos, la hipótesis se acepta parcialmente, debido a que se observaron modificaciones en el desempeño asociadas con la condición hormonal y diferencias entre cepas relacionadas con la vulnerabilidad al estrés; sin embargo, no fue posible establecer de manera concluyente que la condición de estrés modificara por sí misma la separación de patrones.

9. Perspectivas futuras y recomendaciones

Como perspectiva futura, se recomienda ampliar el tamaño de muestra y mantener un diseño experimental equilibrado entre cepa, tratamiento y condición hormonal, con el fin de incrementar la capacidad para detectar posibles efectos e interacciones. Asimismo, sería

conveniente utilizar objetos diferentes en cada sesión de la prueba OPS para reducir la influencia de la habituación y de la novedad sobre el desempeño de los animales.

En los grupos sin ovariectomía, se recomienda considerar la fase del ciclo estral como una variable experimental y analizar su posible relación con el desempeño conductual. De igual manera, sería pertinente complementar la prueba OPS con otras evaluaciones de memoria y conducta exploratoria, así como con estudios neurobiológicos dirigidos al hipocampo, particularmente al giro dentado. Esto permitiría determinar con mayor precisión si las variaciones observadas en la tarea corresponden a modificaciones específicas de la separación de patrones o a cambios generales en la conducta.

Finalmente, sería conveniente profundizar en los efectos de la administración neonatal de MK-801 mediante un abordaje que integre variables conductuales y neurobiológicas. Esto permitiría establecer con mayor claridad la relación entre la alteración temprana de la neurotransmisión glutamatérgica, la vulnerabilidad al estrés y la condición hormonal, así como su participación en los procesos cognitivos dependientes del hipocampo.

10. Bibliografía

- Abel, K. M., Drake, R., & Goldstein, J. M. (2010). Sex differences in schizophrenia. *International Review of Psychiatry*, 22(5), 417–428.
<https://doi.org/10.3109/09540261.2010.515205>
- Aimone, J. B., Deng, W., & Gage, F. H. (2011). Resolving new memories: A critical look at the dentate gyrus, adult neurogenesis, and pattern separation. *Neuron*, 70(4), 589–596. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.05.010>
- Barch, D. M., & Ceaser, A. (2012). Cognition in schizophrenia: Core psychological and neural mechanisms. *Trends in Cognitive Sciences*, 16(1), 27–34.
<https://doi.org/10.1016/j.tics.2011.11.015>
- Bubenikova-Valesova, V., Horacek, J., Vrajova, M., & Höschl, C. (2008). Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA receptors. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32(5), 1014–1023.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.03.012>
- Daniel, J. M., & Bohacek, J. (2010). The critical period hypothesis of estrogen effects on cognition: Insights from basic research. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 1800(10), 1068–1076.
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2010.05.005>
- Das, T., Ivleva, E. I., Wagner, A. D., Stark, C. E. L., & Tamminga, C. A. (2014). Loss of pattern separation performance in schizophrenia suggests dentate gyrus dysfunction. *Schizophrenia Research*, 159(1), 193–197.
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2014.08.003>

- Frick, K. M., Kim, J., Tuscher, J. J., & Fortress, A. M. (2015). Sex steroid hormones matter for learning and memory: Estrogenic regulation of hippocampal function in male and female rodents. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(9), a021832. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021832>
- Harris, L. W., Sharp, T., Gartlon, J., Jones, D. N. C., & Harrison, P. J. (2003). Long-term behavioural, molecular and morphological effects of neonatal NMDA receptor antagonism. *European Journal of Neuroscience*, 18(6), 1706–1710. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02875.x>
- Heckers, S., & Konradi, C. (2015). Hippocampal pathology in schizophrenia. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 4, 529–553. https://doi.org/10.1007/7854_2014_344
- Janke, K. L., Cominski, T. P., Kuzhikandathil, E. V., Servatius, R. J., & Pang, K. C. H. (2004). Investigating the role of hippocampal BDNF in anxiety vulnerability using the Wistar–Kyoto rat model. *Behavioral Brain Research*, 155(2), 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.04.028>
- Lewis, D. A., & Lieberman, J. A. (2000). Catching up on schizophrenia: Natural history and neurobiology. *Neuron*, 28(2), 325–334. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)00111-2](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)00111-2)
- Pare, W. P., & Redei, E. (1993). Depressive behavior and stress ulcer in Wistar Kyoto rats. *Journal of Physiology-Paris*, 87(4), 229–238. [https://doi.org/10.1016/0928-4257\(93\)90023-P](https://doi.org/10.1016/0928-4257(93)90023-P)
- Stefani, M. R., & Moghaddam, B. (2005). Systemic NMDA receptor blockade during early development causes lasting cognitive deficits relevant to schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 57(5), 433–436. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.12.008>
- Tamminga, C. A., Stan, A. D., & Wagner, A. D. (2012). The hippocampal formation in schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, 169(11), 1178–1193. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.12040454>
- Walker, E., Mittal, V., & Tessner, K. (2008). Stress and the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in the developmental course of schizophrenia. *Annual Review of Clinical Psychology*, 4, 189–216. <https://doi.org/10.1146/annurev.clinpsy.4.022007.141248>
- Yassa, M. A., & Stark, C. E. L. (2011). Pattern separation in the hippocampus. *Trends in Neurosciences*, 34(10), 515–525. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.06.006>
- Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. *Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations*. Braz J Biol. 2002;62(4A):609–614.
- Tchekalarova J, Krushovlieva D, Ivanova P, Kortenska L. Spontaneously hypertensive rats vs. Wistar Kyoto and Wistar rats: An assessment of anxiety, motor activity, memory performance, and seizure susceptibility. *Physiol Behav*. 2023 Oct 1;269:114268. doi: 10.1016/j.physbeh.2023.114268. Epub 2023 Jun 10. PMID: 37308045.