



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

**Diferencias morfológicas de neuronas piramidales CA1
y CA3 de hipocampo dorsal de ratas juveniles
sometidas a entrenamiento cognitivo.**

Tesis que para obtener el título de

LICENCIATURA EN BIÓLOGIA

PRESENTA:

Luis Alberto Villanueva Espino

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Adriana Berenice Silva Gómez



Marzo 2016

Diferencias morfológicas de neuronas piramidales CA1 y CA3 de hipocampo dorsal de ratas hembra y macho juveniles sometidas a entrenamiento cognitivo.



Este trabajo fue beneficiado por la Beca o Apoyo para la Titulación otorgado por la Coordinación Nacional de Becas de Educación Superior.

Diferencias morfológicas de neuronas piramidales CA1 y CA3 de hipocampo dorsal de ratas hembra y macho juveniles sometidas a entrenamiento cognitivo.

AGRADECIMIENTOS

Diferencias morfológicas de neuronas piramidales CA1 y CA3 de hipocampo dorsal de ratas hembra y macho juveniles sometidas a entrenamiento cognitivo.

DEDICATORIA

Diferencias morfológicas de neuronas piramidales CA1 y CA3 de hipocampo dorsal de ratas hembra y macho juveniles sometidas a entrenamiento cognitivo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1 El Hipocampo.....	8
1.1.1 Organización de las neuronas piramidales del hipocampo.....	9
1.2. Aprendizaje y Memoria.....	12
1.3. Plasticidad Neuronal.....	14
1.3.1 La Plasticidad Neuronal a lo largo de la Historia.....	16
1.3.2 El sexo y la plasticidad neuronal.....	16
1.3.3 La plasticidad dependiente de la edad.....	17
2. JUSTIFICACIÓN.....	19
3. HIPÓTESIS.....	20
4. OBJETIVOS.....	20
4.1 General.....	20
4.2 Particulares.....	20
5. MATERIAL Y MÉTODO.....	21
5.1. Pruebas Cognitivas.....	21
5.1.1 Sujetos.....	21
5.1.2 Prueba de actividad locomotora en campo abierto.....	21
5.1.3 Prueba de laberinto acuático de Morris.....	22
5.1.4 Prueba de reconocimiento de objetos.....	24
5.1.5 Prueba de laberinto circular de Barnes.....	25
5.2. Morfología Neuronal.....	27
5.2.1 Sujetos.....	27
5.2.2 Tinción Golgi-Cox.....	27
5.2.3 Análisis morfológico.....	28
5.3. Análisis estadístico.....	30
5.3.1 Análisis de las pruebas cognitivas.....	30
5.3.2 Análisis de la Morfología.....	32
6. RESULTADOS.....	33
6.1. Pruebas Conductuales.....	33
6.1.1 Actividad locomotora en campo abierto.....	33
6.1.2 Laberinto acuático de Morris.....	35
6.1.3 Laberinto circular de Barnes.....	36
6.1.4 Prueba de reconocimiento de objetos.....	37
6.2 Morfología Neuronal.....	40
6.2.1 Análisis de Sholl.....	44
6.2.2 Longitud Dendrítica por Orden de Ramificación.....	47
6.2.3 Longitud Dendrítica Total.....	51
6.2.4 Densidad de Espinas Dendríticas.....	51
7. Discusión.....	55
8. Conclusiones.....	61
9. Bibliografía.....	62

ÍNDICE DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

TFA: Tiempo de Falla Acelerado	t1: Fase de aprendizaje
CA1: Cuerno de Amón 1	t2: Fase de memoria a corto plazo
CA2: Cuerno de Amón 2	t3: Fase de memoria a largo plazo
CA3: Cuerno de Amón 3	VP: Vía Perforante
CA4: Cuerno de Amón 4	
CIA: Criterio de Información de Akaike	
°C: Grados Celsius	
CE: Corteza Entorrinal	
cm: centímetros	
d2: Índice de discriminación	
EE: Error Estandar	
g: gramos	
GD: Giro Dentado	
HC: Hembras Control	
HE: Hembras Experimental	
µm: micras (micrómetros)	
m: metros	
MC: Machos Control	
ME: Machos Experimental	
PLP: Potenciación a Largo Plazo	
SE: Sureste	
el: estrato lucidum	
el-m: estrato lacunosum-moleculare	
SNC: sistema nervioso central	
eo: estrato oriens	
ep: estrato piramidal	
er: estrato radiatum	
Sub: subículo	

RESUMEN

Diversas líneas de investigación han permitido establecer que el hipocampo está involucrado en los procesos de aprendizaje y memoria. Para que estos procesos se lleven a cabo, se requieren de ciertos cambios estructurales y fisiológicos de los sistemas neuronales. Por ejemplo, cambios morfológicos en el cerebro en respuesta al entrenamiento cognitivo han sido descritos en el sistema nervioso de un amplio número de especies; este proceso de plasticidad morfológica puede ser provocado por la estimulación ambiental, y es observado y medido en múltiples niveles. Esta información ha sido obtenida principalmente de ratas machos, por lo cual el objeto de este trabajo fue determinar si los cambios en la morfología que produce la actividad cognitiva en las neuronas del hipocampo dorsal nos indica un dimorfismo sexual. Un grupo de ratas hembra y un grupo de ratas macho de la cepa Long Evans fueron empleadas para realizar cuatro pruebas cognitivas. Con la finalidad de observar los efectos de las pruebas cognitivas se comparó la morfología de la arborización apical y basal, así como la densidad de espinas dendríticas de las regiones CA1 y CA3 del hipocampo dorsal en ratas hembra y ratas macho. Tanto ratas hembra como ratas macho se desempeñaron de manera similar en las pruebas, únicamente en la prueba de actividad locomotora se observó hiperactividad en el desempeño de las ratas hembra. En el análisis morfológico, se observó que las ratas hembra y las ratas macho que realizaron las pruebas mostraron incrementos en la arborización apical de las neuronas CA1, además de incrementos en la densidad de espinas dendríticas tanto de la arborización apical y basal de las neuronas CA1 y CA3 respecto de sus controles. Existe una variedad de factores que pueden influir en la magnitud de las diferencias sexuales, tales como la cepa o el estrés, lo cual explica la ausencia de diferencias en el desempeño de los animales. Los efectos de las pruebas cognitivas sobre la morfología pueden ser explicados por los patrones de conexión que recibe cada tipo neuronal y por el papel que juega cada estructura en el procesamiento de la información. La ejecución de pruebas cognitivas favorece el incremento en la arborización dendrítica de la región CA1 así como el incremento en la densidad de espinas dendríticas sobre las regiones CA1 y CA3 del hipocampo sin mostrar indicios de dimorfismo sexual.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 El Hipocampo

Una de las características más fascinantes de esta estructura es su anatomía. La simple organización de sus capas celulares principales acopladas con la altamente organizada distribución laminar de sus principales entradas han fomentado su uso como un sistema modelo para la neurobiología moderna (Amaral & Lavenex, 2007).

Sólo los mamíferos placentarios poseen una formación hipocampal desarrollada, conformada por el giro dentado (GD), el subículo (Sub), el parasubículo, la corteza entorrinal (CE) y el propio hipocampo (Amaral & Lavenex, 2007). Esta formación hipocampal se encuentra situada en la parte medial del lóbulo temporal, formada por un pliegue de la pared del hemisferio medial (Figura 1); constituye una estructura cerebral que juega un papel crucial en la memoria y en la regulación neuroendocrina de las hormonas del estrés (Kim & Diamond, 2002). Se delimita por una densa capa de células piramidales y el área dentada por una densa banda de células granulares o piramidales pequeñas (Issacson, 1982). Por su lado lateral, la formación bordea la pared medio basolateral del ventrículo lateral (Amaral & Lavenex, 2007).

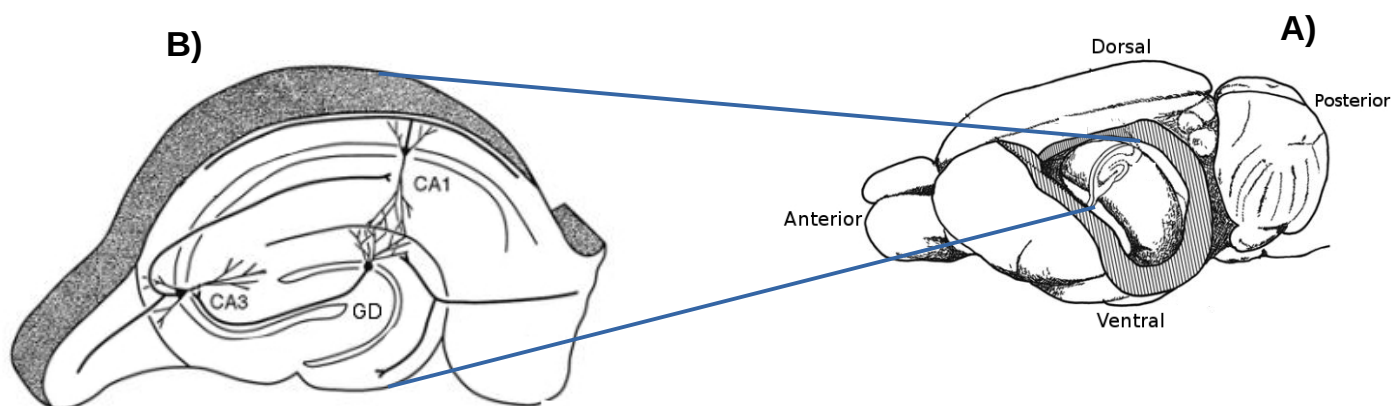


Figura 1.- A) Se muestra la ubicación del hipocampo en el cerebro de la rata, las líneas indican una ampliación del hipocampo. B) Se muestran las principales regiones conformadas por el giro dentado (GD), Cuerno de Ammon 3 (CA3) y Cuerno de Ammon 1 (CA1) (tomado y modificado de Amaral & Lavenex, 2007).

1.1.1 Organización de las neuronas piramidales del hipocampo

El hipocampo se subdivide en regiones denominadas: Cuerno de Amón 1 (CA1), Cuerno de Amón 2 (CA2), Cuerno de Amón 3 (CA3) y Cuerno de Amón 4 (CA4). La región del hipocampo más cercana a la corteza cerebral corresponde a CA1, esta región se caracteriza por tener neuronas piramidales homogéneas con 1 o 2 dendritas apicales y arborizaciones apicales y basales similares en longitud (Amaral & Lavenex, 2007). El soma de estas neuronas es piramidal y generalmente pequeño; el estrato piramidal de CA1 humano es amplio mientras que en ratas es angosto y denso. La región CA2 está compuesta de somas grandes, ovoides y densamente empaquetados, haciendo el estrato piramidal denso y estrecho, en un marcado contraste con CA1. La región más alejada de la corteza cerebral es la denominada CA3, estas somas son como los de CA2, pero su densidad no es tan pronunciada, una característica típica de CA3 es la presencia de fibras amielínicas, las fibras musgosas, las cuales emergen desde el giro dentado. Esta región contiene células piramidales heterogéneas que tienen longitudes dendríticas y organización variables (Figura 2). Finalmente una pequeña región que parece la transición entre hipocampo y el giro dentado es la llamada CA4 (Duvernoy *et al*, 2013; Silva *et al*, 2013).

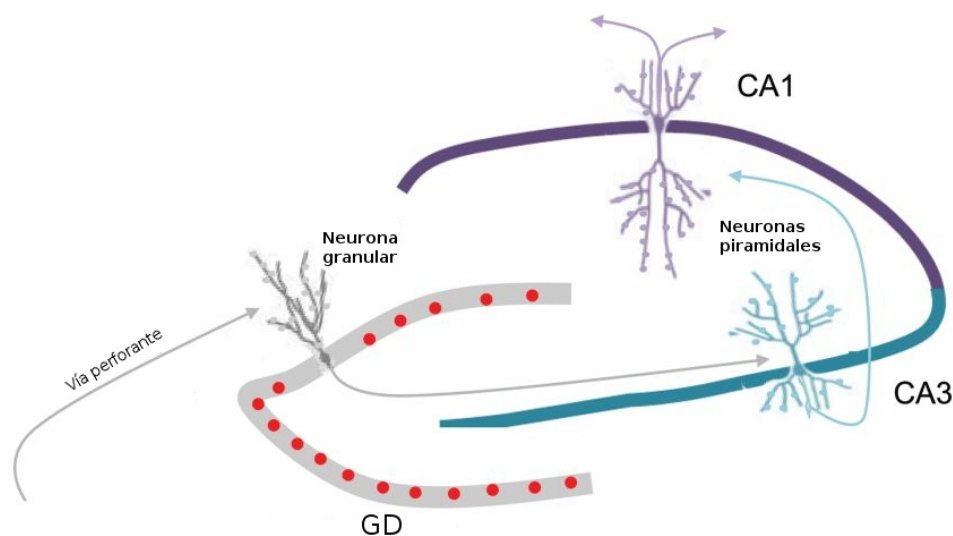


Figura 2.- Representación gráfica de las principales conexiones entre las áreas del hipocampo. Se muestran las neuronas piramidales de la región CA1 y CA3, además de las neuronas granulares del giro dentado (tomado y modificado de Leuner & Gould, 2010).

La organización estructural del hipocampo ha sido estudiada con gran detalle en roedores (Amaral & Lavenex, 2007), de ella se distinguen varias capas (Figura 3 y Figura 4), las principales son:

estrato oriens (eo): el cual está formado por las dendritas basolaterales de las neuronas piramidales hipocampales y varias clases de interneuronas (neuronas en canasta). En la parte proximal de dichas dendritas terminan las aferencias comisurales procedentes del hipocampo contralateral. Es atravesado por los axones de neuronas piramidales que arriban del alveus.

estrato piramidal (ep): está formado por los somas de las células piramidales, densamente empaquetados. En este estrato las células en canasta de axón corto forman glomérulos alrededor del cuerpo de las neuronas piramidales.

estrato radiatum (er): contiene las dendritas primarias de las células piramidales; las colaterales de Schaffer, que son los axones de neuronas piramidales CA3, las cuales terminan en la parte proximal de las dendritas apicales de las neuronas piramidales CA1; las porciones distales de las dendritas apicales de neuronas piramidales existentes en este estrato, son el campo donde finalizan las proyecciones comisurales desde CA3 del hipocampo contralateral y de las aferencias desde el septum.

estrato lucidum (el): presente solo en el área CA3 representa la franja de fibras musgosas que se originan del giro dentado situándose inmediatamente suprayacentes a la capa de células piramidales.

estrato lacunosum-moleculare (el-m): está formado por las ramas terminales de las dendritas apicales de las neuronas piramidales. En esta capa finalizan los axones de la vía perforante, procedentes de la corteza entorrinal y del tracto cruzado temporo-amónico procedentes de la parte lateral de la corteza entorrinal ipsi- y contralateral.

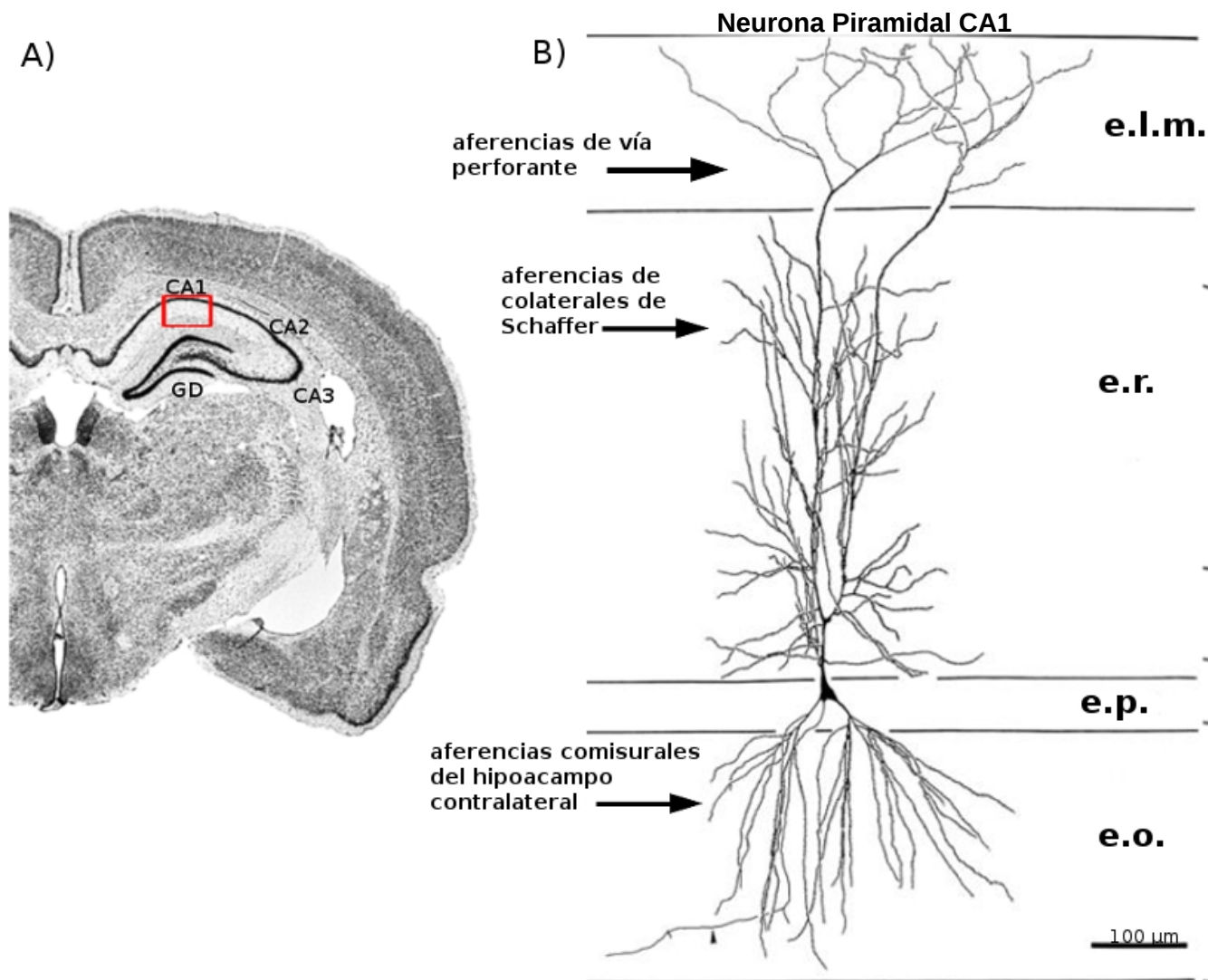


Figura 3.- Morfología de una neurona piramidal de la región CA1 del hipocampo. A) Se muestra un corte coronal de un cerebro de rata y la localización de la formación hipocampal, se muestra la región CA1, CA2, CA3 y el GD. B) Se muestra el dibujo de una neurona piramidal de la región CA1 del hipocampo realizado con la ayuda de una cámara lucida. El soma se encuentra en el *estrato piramidal*, mientras que las dendritas basolaterales se extienden sobre el *estrato oriens* y las dendritas apicales sobre el *estrato radiatum* y el *lacunosum-moleculare*. e.o.: *estrato oriens*; e.p.: *estrato piramidal*; e.r.: *estrato radiatum*; e.l.m.: *estrato lacunosum-moleculare*. Barra de escala: 100 µm (Tomado y modificado de Amaral & Lavenex, 2007).

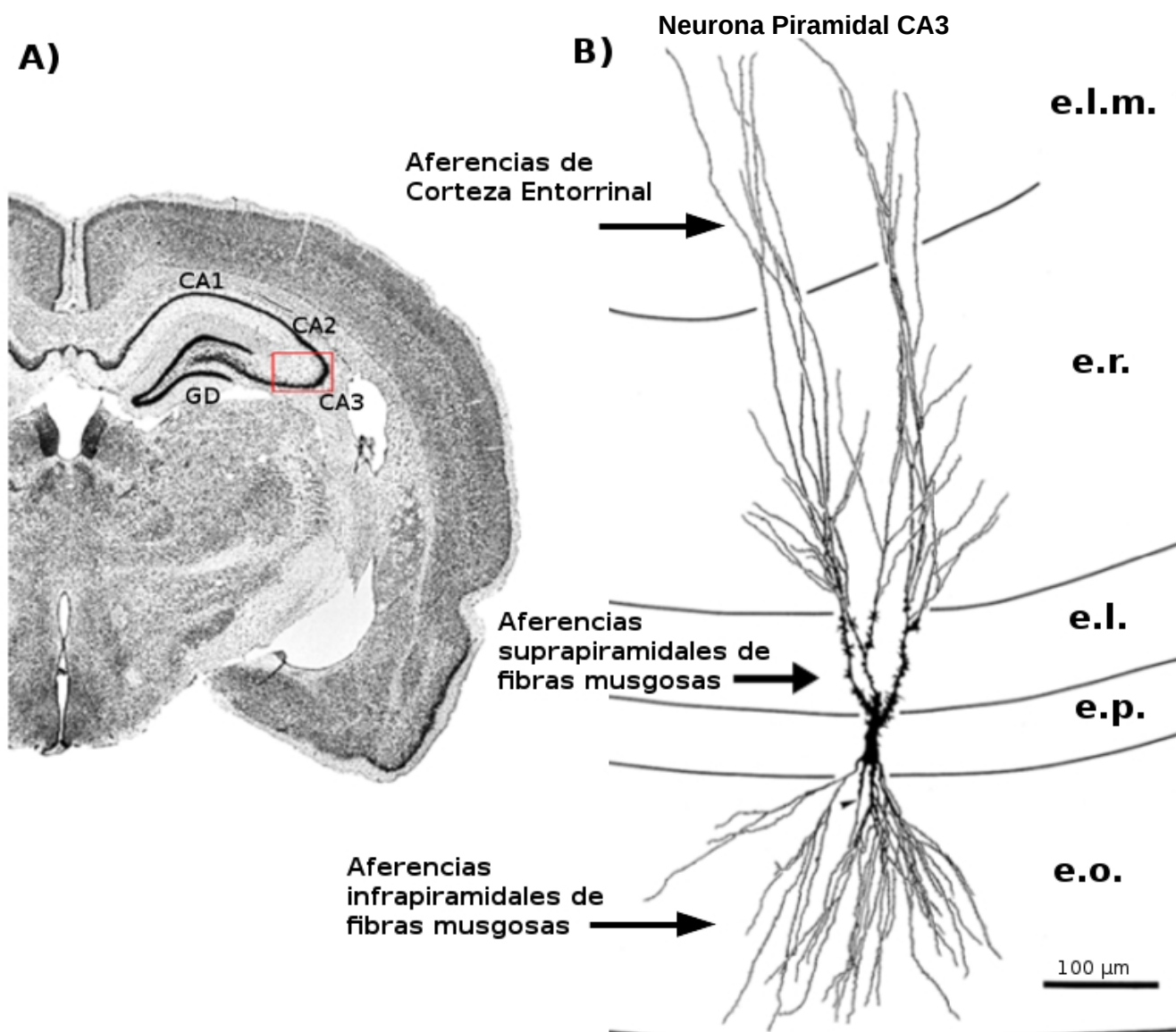


Figura 4.- Morfología de una neurona piramidal de la región CA3 del hipocampo. A) Se muestra un corte coronal de un cerebro de rata y la localización de la formación hipocámpica, se muestra la región CA1, CA2, CA3 y el GD. B) Se muestra el dibujo de una neurona piramidal de la región CA3 del hipocampo realizado con la ayuda de una cámara lucida. Para las neuronas CA3 se añade otra capa, el *estrato lucidum*, entre el *estrato piramidal* y el *estrato radiatum*. Igualmente las dendritas basolaterales se extienden sobre el *estrato oriens* y las apicales en el *estrato radiatum*. e.o.: *estrato oriens*; e.p.: *estrato piramidal*; e.r.: *estrato radiatum*; e.l.: *estrato lucidum*; e.l.m: *estrato lacunosum-moleculare*. Barra de escala: 100 µm (Tomado y modificado de Amaral & Lavenex, 2007).

1.2. Aprendizaje y Memoria

Una de las funciones complejas más fascinantes del encéfalo es la capacidad para almacenar la información provista por la experiencia y recuperar gran parte de ella a voluntad (Purves *et al*; 2007). Existen estructuras y circuitos cerebrales que están involucrados en los procesos de aprendizaje y memoria. Diversas líneas de investigación han permitido establecer que la formación de la memoria explícita ocurre en el hipocampo (CA1, CA3, giro dentado) y estructuras subyacentes a éste (corteza entorrinal, perirrinal, parahipocampal) así como el subículo y la amígdala (García, 2011).

El aprendizaje puede ser descrito como el mecanismo por el cual el sistema nervioso adquiere nueva información que se observa como cambios en el comportamiento (Purves *et al*; 2007). La memoria se refiere al mecanismo por el cual aquel conocimiento es codificado, almacenado y recuperado, estos son dos procesos cognitivos llevados a cabo por el SNC que generan cambios en la conducta, indispensables para la supervivencia del individuo cuando éstos se enfrentan a nuevos ambientes y estímulos (Lynch, 2004; García, 2011, Ordoñez, 2013).

Experimentos conductuales establecieron claramente que el hipocampo dorsal juega un rol crucial en el procesamiento de la información espacial y en la memoria espacial en ratas (Potvin *et al*; 2007., Kesner *et al*; 2011). El hipocampo dorsal establece redes de conectividad neuronal formando circuitos con otras áreas como el complejo hipocampo dorsal-subículo dorsal, el cual juega un papel crucial en la memoria espacial por medio del procesamiento de la información idiótéica y el mantenimiento de esta información en la memoria (Potvin *et al*; 2007), este complejo a su vez se conecta con áreas corticales del cíngulo anterior y del área retrosplenial que median procesos cognitivos tales como aprendizaje, memoria, navegación y exploración (Fanselow & Dong, 2009).

La memoria no es estática y no es una función aislada; la memoria puede ser mejor descrita como una red compleja de diferentes funciones interrelacionadas trabajando juntas con el objetivo de manejar la información. Es más apropiado especificarla en términos de un sistema de memoria, este puede ser definido como una función cerebral cuyo propósito es

clasificar, codificar, almacenar y recuperar una amplia diversidad de información relevante para el sujeto (Carrillo *et al*; 2009, Purves *et al*; 2008., Squire *et al*; 2008).

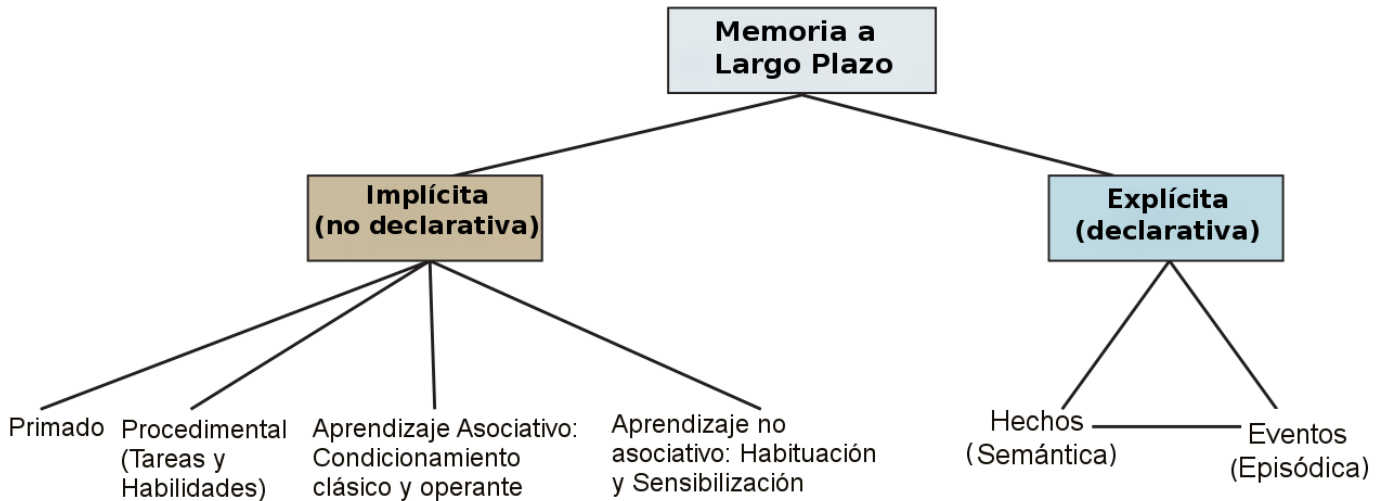


Figura 5.- Esquema que muestra las dos principales categorías en las que se divide a la memoria a largo plazo, de un lado la memoria no declarativa que representa la información de habilidades que no pueden ser transmitidas oralmente y del otro lado la memoria declarativa, referente a la información que es convencionalmente transmitida (Tomado y modificado de Kandel *et al*; 2012).

Los seres humanos tienen por lo menos dos sistemas cualitativamente diferentes de almacenamiento de la información que se denominan en general memoria declarativa y memoria no declarativa (Figura 5). La primera es el almacenamiento (y la recuperación) de material que está disponible para la conciencia y que puede expresarse mediante el lenguaje (declarativa), por ejemplo la capacidad para recordar un número telefónico o una canción. Por otra parte la memoria no declarativa no se encuentra disponible para la conciencia, este tipo de memoria implica habilidades y asociaciones que son, en su mayor parte, adquiridas y recuperadas en un nivel inconsciente. Recordar como se conduce o como jugar fútbol son ejemplos de este tipo de memoria (Purves *et al*; 2008, Kandel *et al*; 2012).

La memoria también puede categorizarse de acuerdo con el tiempo durante el cual es eficaz, en general se aceptan tres clases temporales de memoria (Purves *et al*; 2008). La primera es la memoria inmediata, que se define como la capacidad habitual para mantener

en la mente experiencias durante fracciones de segundo. La información que prevalece se traslada desde la memoria inmediata a la memoria de trabajo (Ordoñez, 2013).

La memoria de trabajo es la capacidad para mantener en la mente la información durante segundos o minutos una vez pasado el momento presente; este tipo de memoria se utiliza durante el aprendizaje de tareas complejas, que requieren que dos clases de información permanezcan accesibles. La tercera categoría temporal es la memoria a largo plazo que implica la retención de la información en una forma más permanente de almacenamiento durante días, semanas o incluso durante toda la vida (Purves *et al*; 2008., Ordoñez, 2013).

1.3. Plasticidad Neuronal

El cerebro tiene una remarcable habilidad de respuesta al medio ambiente para modificar las conductas que permitan alcanzar su adaptación al medio, a través de complejos programas genéticos, celulares, moleculares y de factores externos (Nithianantharajah & Hannan, 2006; Muhammad *et al*, 2013).

Para llevar a cabo el proceso de la memoria se requieren de ciertos cambios fisiológicos y estructurales de los sistemas neuronales, mediante la activación de mecanismos celulares como la expresión y síntesis de proteínas, las cuales se relacionan estrechamente con cambios conductuales (Izquierdo *et al*; 2002). De esta manera la experiencia en un ambiente enriquecido (estimulación sensorial, cognitiva y motora) o en un entrenamiento conductual altera la morfología neuronal de un amplio rango de especies y de regiones cerebrales.

La plasticidad morfológica que ocurre naturalmente es un proceso que puede ser provocado por la estimulación ambiental y que es observado y medido en múltiples niveles (Briones *et al*; 2004., Holtmaat & Svoboda, 2009., Muhammad *et al*., 2013; Rabipour & Raz, 2012). Por ejemplo, cambios morfológicos en el cerebro en respuesta a experiencias han

sido descritos en el sistema nervioso de un amplio número de especies (Briones *et al*; 2004); estos cambios están relacionados con un incremento en el tamaño cerebral, en el grosor cortical, en el tamaño neuronal, en la longitud dendrítica, en la ramificación dendrítica, en la densidad de espinas dendríticas, en el número y complejidad de las células gliales y en el tamaño de la sinapsis, y han sido descritos en neuronas del sistema somatosensorial y la corteza visual, así como en el hipocampo y el núcleo estriado. Específicamente, el entrenamiento en tareas motoras o pruebas de laberintos puede producir cambios específicos de la zona en la arborización dendrítica (Kolb *et al.*, 1998; Kolb *et al*; 2003., Kolb *et al*; 2008, Kolb *et al*; 2013., Muhammad *et al*; 2013, Bakos *et al*; 2009, Pang & Hannan, 2013).

Con relación a las funciones cognitivas, se ha mostrado que los ambientes enriquecidos mejoran el aprendizaje espacial en el laberinto acuático de Morris, en el laberinto radial y en el laberinto en T; además de que potencian la memoria a largo plazo, aceleran la habituación e incrementan la actividad exploratoria (Bakos *et al*; 2009., Peña *et al*; 2009).

Aunque hay importantes discrepancias en la literatura sobre las consecuencias fisiológicas y conductuales de la exposición a ambientes enriquecidos que son probablemente relacionados con diferencias particulares entre las especies, el sexo y la edad a la cual los animales son expuestos al ambiente enriquecido, está claro que estos ambientes ejercen profundos efectos biológicos sobre los organismos, la mayoría de ellos benéficos (Peña *et al*; 2009).

Los estudios de los cambios dependientes de la experiencia en experimentos con manipulación de estímulos externos permiten obtener una rica fuente de información que es relevante para las teorías neurobiológicas que explican la función cerebral así como para las teorías generales de la organización conductual (Kolb *et al*; 1998).

1.3.1 La Plasticidad Neuronal a lo largo de la Historia

Aunque la idea de que la estructura cerebral puede ser modificada por la experiencia se relaciona con Santiago Ramón y Cajal, fue Donald O. Hebb (1949) quien hizo de esto una característica central de su teoría neuropsicológica (Kolb *et al*; 1998).

Hebb realizó el primer experimento sobre el efecto de la crianza enriquecida sobre la conducta de la rata, pero fue el grupo de la universidad de Berkeley el que demostró cambios en el peso cerebral, en el grosor cortical, en los niveles de acetilcolina y en la estructura dendrítica que sirvió como evidencia de un cambio estructural inducido por la experiencia (Greenough *et al.*, 1987; Diamond *et al.*, 1967; Rosenzweig & Bennett , 1996).

Greenough y sus colegas (1979) fueron de los primeros en observar los efectos del entrenamiento en tareas específicas sobre la morfología de las neuronas corticales; en sus primeros estudios, entrenaron ratas en laberintos visuales y analizaron la estructura de neuronas en la corteza visual. Sus principales hallazgos fueron que las neuronas de las ratas entrenadas tuvieron un incremento significativo en la arborización dendrítica respecto a las ratas no entrenadas (Kolb *et al.*, 1998; Greenough *et al*; 1987).

1.3.2 El sexo y la plasticidad neuronal

Existe un cúmulo de evidencia que menciona que los machos y las hembras difieren en su estructura, y que responden de manera diferente a los eventos ambientales (Kolb *et al*; 1998). La mayoría de estas diferencias dependientes del sexo en el sistema nervioso de los mamíferos son, en gran medida, inducidas por las hormonas gonadales durante el desarrollo (Juraska, 1991., Kolb *et al*; 1998). Pero además pueden existir diferencias sexuales sobre la estructura dendrítica en áreas del cerebro que no están asociadas directamente con la

función reproductiva (Juraska *et al*; 1989).

En algunos estudios la influencia del sexo ha sido específicamente reportada, por ejemplo Juraska (1984) encontró que los ambientes enriquecidos causan un incremento en la arborización dendrítica de neuronas piramidales y estrelladas de la corteza visual de ratas macho y una gran complejidad dendrítica en las neuronas del giro dentado de hembras. Diamond y colaboradores (2001) describieron un gran incremento en el grosor de la corteza occipital de machos criados en ambientes enriquecidos, mientras que las hembras criadas en los mismos ambientes tuvieron una corteza somática más gruesa (Peña *et al*; 2009).

Las diferencias sexuales que se aprecian en el hipocampo no son fáciles de correlacionar con las predicciones acerca de las diferencias sexuales en la conducta, no obstante, a través de la conducta espacial, en la cual el hipocampo juega un rol importante, se puede medir el desempeño de los animales en diferentes pruebas de laberintos, y sería lógico pensar que las diferencias sexuales en el desempeño de las pruebas de laberintos podrían ser un reflejo de diferencias sexuales en la formación hipocampal (Juraska, 1991, Juraska *et al*; 2013).

1.3.3 La plasticidad dependiente de la edad

El desarrollo del sistema nervioso es altamente dependiente de las interacciones entre el organismo y su ambiente. Esta experiencia con el ambiente tiene efectos cualitativamente y cuantitativamente diferentes sobre el cerebro de los animales dependiendo de la edad a la cual son colocados en un ambiente enriquecido (Kolb *et al*; 1998). Por ejemplo, la exposición temprana de animales a ambientes enriquecidos puede cambiar la estructura neuronal y la función conduciendo a mejoras duraderas en el aprendizaje y en la memoria (Moser *et al*; 1994).

Hay evidencias de que ratas juveniles y adultas muestran un incremento en la longitud dendrítica en respuesta a ambientes enriquecidos (Kolb *et al*; 2003), y cambios sinápticos y morfológicos a través del aprendizaje (Muhammad *et al*; 2013), estos cambios plásticos dependientes de la edad son probablemente muy importantes y reflejan la sensibilidad diferencial del cerebro juvenil a la experiencia durante el desarrollo (Kolb *et al*; 1998).

El entrenamiento espacial de ratas adultas por exposición a un ambiente desafiante está asociado con un incremento en la densidad de espinas dendríticas de las neuronas piramidales CA1 del hipocampo. Los animales entrenados también mostraron incrementos en la habilidad de aprendizaje como lo señala la rápida adquisición en el laberinto acuático de Morris. Estos hallazgos demuestran que el entrenamiento conductual puede inducir cambios estructurales en el hipocampo de ratas adultas (Moser *et al*; 1994).

2. JUSTIFICACIÓN

El medio en el que se desarrolla un individuo influye de manera importante en el cerebro y en la habilidad de respuesta que tiene para modificar la conducta que se requiere para su adaptación (Nithianantharajah & Hannan, 2006., Muhammad *et al*; 2013).

Existen estructuras y circuitos cerebrales que están involucrados en los procesos de aprendizaje y memoria. Diversas líneas de investigación han permitido establecer que la formación de la memoria explícita ocurre en el hipocampo (García, 2011); éste muestra el fenómeno de plasticidad sináptica, que presenta cambios en la longitud dendrítica de las neuronas y en la densidad de espinas dendríticas, los cuales están implicados en el reforzamiento del aprendizaje y en el almacenamiento de la información adquirida durante la jornada de trabajo y las actividades cotidianas.

Las experiencias en ambientes enriquecidos (estimulación sensorial, cognitiva y motora) y en entrenamientos cognitivos modifican la morfología neuronal (Kolb & Wishaw, 1998, Peña *et al*; 2009). Sin embargo, esta información ha sido obtenida principalmente de ratas machos, debido a que se pensaba que el ciclo estral de las ratas hembra influía de manera importante en la morfología y función neuronal, sin embargo, recientemente se ha determinado que a pesar de que el ciclo estral genera variación, esta variación no es suficiente para explicar las diferencias entre los sexos (Prendergast *et al*; 2014), por lo cual es importante y necesario determinar si los cambios morfológicos que genera la actividad cognitiva sobre la morfología de neuronas del hipocampo dorsal nos indican un dimorfismo sexual sin tomar en cuenta el ciclo estral de las hembras.

3. HIPÓTESIS

El entrenamiento cognitivo promueve cambios en la morfología de neuronas CA1 y CA3 de hipocampo dorsal relacionados con un incremento en la arborización dendrítica y en la densidad de espinas dendríticas de manera dimórfica entre machos y hembras.

4. OBJETIVOS

4.1 General

- ❖ Analizar el efecto del entrenamiento cognitivo sobre la morfología neuronal del hipocampo dorsal de ratas hembra y ratas macho juveniles.

4.2 Particulares

- Determinar si existen diferencias en la ejecución de pruebas de aprendizaje y memoria entre ratas hembra y ratas macho.
- Analizar el efecto del entrenamiento cognitivo sobre la arborización dendrítica y sobre la densidad de espinas dendríticas de neuronas CA1 y CA3 de hipocampo dorsal de ratas hembra y ratas macho.

5. MATERIAL Y MÉTODO

5.1. Pruebas Cognitivas

5.1.1 Sujetos

Se emplearon 16 ratas de la cepa Long Evans de 8 semanas de edad (65 días), 8 hembras juveniles con un peso de 215 ± 10 g, y 8 machos juveniles con un peso de 230 ± 10 g, las cuales se obtuvieron del Bioterio “Claude Bernard” de la BUAP. Fueron mantenidas bajo condiciones controladas de luz, humedad relativa (55%) y en un ciclo luz-oscuridad de 12:12 horas, con acceso libre a agua y a alimento. Los animales se dividieron en 2 grupos experimentales conformados por 8 machos y 8 hembras. Estos dos grupos experimentales fueron sometidos a cuatro pruebas cognitivas, las cuales se describen a continuación.

5.1.2 Prueba de actividad locomotora en campo abierto

Esta prueba se realizo antes de iniciar con las pruebas de entrenamiento cognitivo con la finalidad de comenzar a manipular a los animales, medir su reactividad emocional y reducir el estrés generado por la exposición a ambientes nuevos. Los animales fueron llevados del Bioterio “Claude Bernard” al cuarto donde realizaron la prueba, aquí permanecieron por un periodo de 20 minutos antes de iniciar la prueba, para permitirles habituarse y para que disminuyera el estrés generado por el traslado. La prueba consistió en colocar a las ratas en una caja de madera negra, (60 x 60 x 60 cm) cuya base estaba dividida en 9 cuadros de 20 x 20 cm (Figura 6). Se evaluó el número de cuadros cruzados por el animal durante 15 minutos, tomando como criterio que las ratas colocaran las cuatro extremidades en un cuadro. El número de cuadros cruzados por las ratas se multiplicó por 20 cm para calcular la distancia recorrida a los 15 minutos y también se calculó la distancia recorrida en intervalos de 5 minutos. Igualmente se cuantificó el número de heces que dejo cada animal durante la

prueba, esto con la finalidad de medir la reactividad emocional de los animales. Entre prueba y prueba se limpió la caja para evitar influencia en la conducta por el olor de la rata anterior.

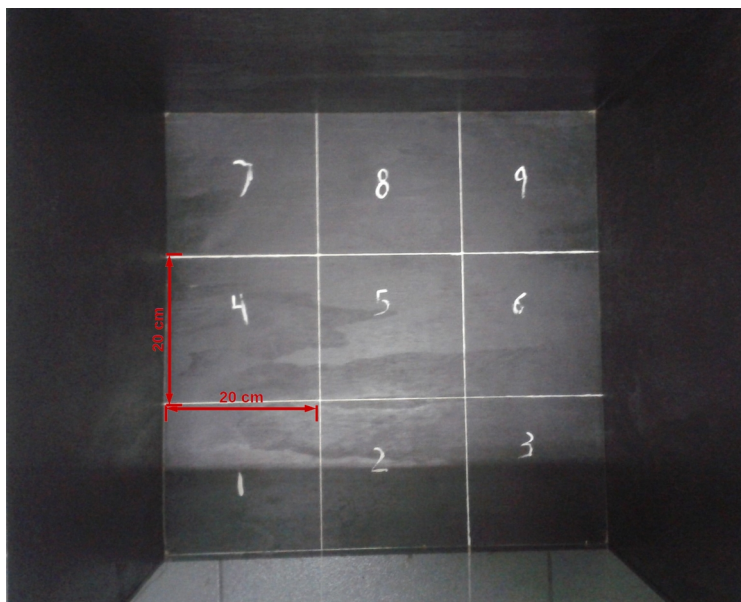


Figura 6.- Se muestra el aparato dividido en 9 cuadros de 20x20 cm, en el cual se realizó la prueba de actividad locomotora en campo abierto.

5.1.3 Prueba de laberinto acuático de Morris

Para evaluar el aprendizaje, la memoria espacial y la memoria de trabajo se realizó la prueba de laberinto acuático de Morris (Morris, 1981). La prueba fue realizada en una tina circular de 1.80 m de diámetro y 80 cm de altura, dividida en 4 cuadrantes (norte, este, sur, oeste). La tina cuenta con una plataforma de escape circular de 40 cm de alto y 15 cm de diámetro la cual se colocó a nivel del cuadrante Sureste (SE), a 2 cm por debajo del nivel del agua. El agua fue teñida con colorante no tóxico (bióxido de titanio) para mantener oculta la plataforma de escape, además, la tina se colocó en un cuarto de conducta que tiene minimizado el ruido; en las paredes del cuarto se colocaron señales extra laberínticas para ayudar a la ubicación de la plataforma de escape (Figura 7). La temperatura se mantuvo constante ($22^{\circ}\text{C} \pm 2$). Los animales fueron trasladados del Bioterio “Claude Bernard” al cuarto

de conducta en el cual permanecieron por un periodo de 20 minutos antes de iniciar la prueba, para permitirles habituarse y para que disminuyera el estrés generado por el traslado.

El total de ensayos realizados por los animales fue de 24 durante 6 días de prueba, los primeros 4 ensayos correspondieron a la fase de habituación, los cuales consistieron en introducir a los animales a la tina con el rostro orientado hacia la pared de la misma y depositarlos suavemente sobre el agua. Se les permitió el reconocimiento de la tina por 120 segundos. Si el animal encontró la plataforma o no la encontró en el tiempo antes mencionado se les tomó y colocó sobre la plataforma de escape por 30 segundos. Durante cada prueba el animal fue introducido desde un cuadrante diferente.

Los siguientes 16 ensayos correspondieron a la etapa de aprendizaje, en los cuales se cuantificó la latencia de escape en segundos, pero ya no se colocó a los animales en la plataforma por 30 segundos. Los últimos 4 ensayos fueron realizados 15 días después de la etapa de aprendizaje, los cuales correspondieron a la etapa de memoria, sólo se cuantificó la latencia de escape. Entre ensayo y ensayo se permitió un tiempo de 50 minutos de descanso para los animales.

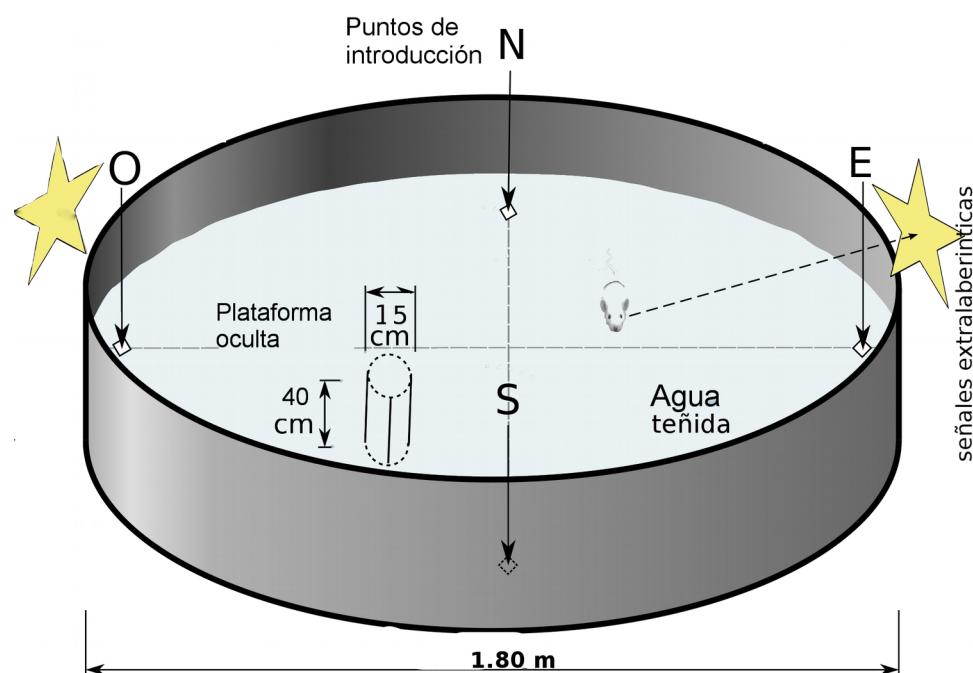


Figura 7.- Esquema del laberinto acuático de Morris, en el que se muestran los cuadrantes en los cuales se introduce al animal, las medidas de la plataforma de escape y la representación de las señales extralaberínticas.

5.1.4 Prueba de reconocimiento de objetos

La prueba de reconocimiento de objetos fue diseñada por Ennaceur y Delacour (1988), para medir la memoria declarativa y la memoria a corto plazo. Esta prueba se basa en la conducta de exploración natural y espontánea que presentan los roedores hacia los objetos novedosos.

Se realizó en una caja de madera de 61 cm de ancho, 81 cm de largo, y 30.4 cm de altura; la prueba fue ejecutada en un cuarto con luz roja. En una primera fase o fase de habituación se colocó a la rata 15 minutos en la caja sin ningún objeto, y con la base de la caja cubierta con aserrín; 24 horas después se llevó a cabo la fase de aprendizaje (t1) donde fueron colocados 4 objetos a una distancia de 12 cm de cada esquina de la caja, cada objeto fue pegado con Kola loca® a un pequeño cuadro de cartón que también fue pegado a la base de la caja que también se cubrió con aserrín (Figura 8). El animal fue introducido a la caja durante 5 minutos.

La tercera fase o fase de memoria a corto plazo (t2) se realizó 30 minutos después de realizada la fase de aprendizaje, igualmente se pegaron los objetos, pero un objeto fue cambiado por un objeto nuevo, y la posición de los objetos se cambió de manera cruzada; la rata fue colocada 5 minutos para permitir la libre exploración. Quince días después se realizó la fase de memoria a largo plazo (t3), igualmente se cambió un objeto familiar por un objeto nuevo y se dejó al animal explorar por 5 minutos. Al finalizar cada prueba se llevó a cabo la limpieza de objetos y de la caja.

Cada fase de todas las pruebas fue registrada en video para su posterior análisis. Se cuantificó el tiempo que invirtió la rata en explorar el objeto nuevo y el tiempo que invirtió con los objetos familiares. La exploración de un objeto fue definida de la siguiente manera: que la rata direcciona su nariz a una distancia ≤ 2 cm del objeto y lo toque con la nariz, lo olfatee, lo lama o cuando el movimiento de las vibrisas permita que estas toquen el objeto. Dar vueltas alrededor del objeto o sentarse sobre él no se consideró como exploración.

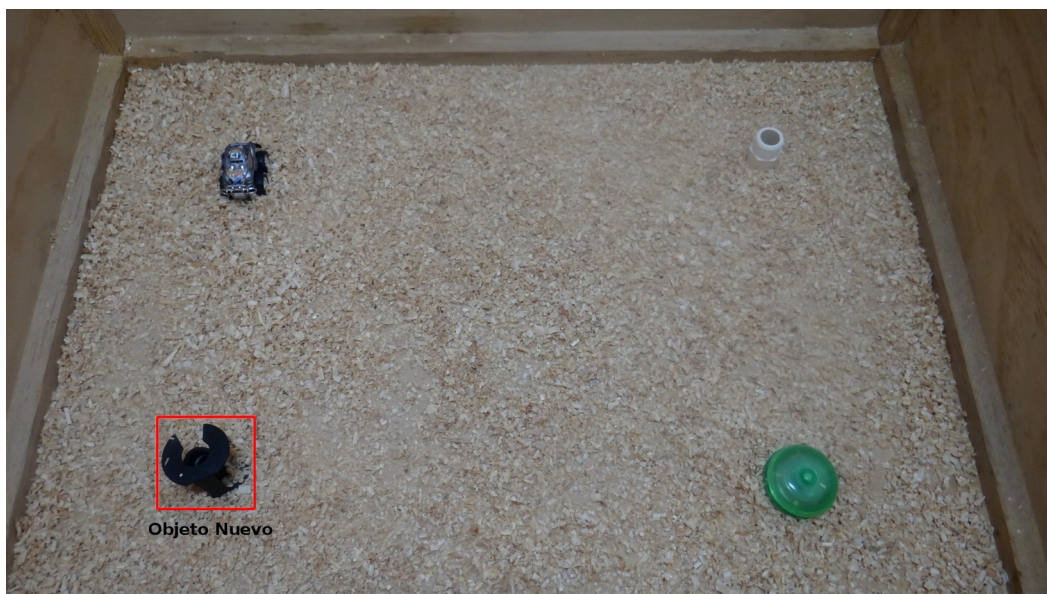


Figura 8.- Caja de reconocimiento de objeto. Se muestran los objetos que se emplearon para la fase de memoria, cada objeto se encuentra a una distancia de 12 cm de las esquinas, el objeto que se muestra en la esquina inferior izquierda es el objeto nuevo.

5.1.5 Prueba de laberinto circular de Barnes

Uno de los paradigmas utilizados en la evaluación de la memoria espacial en roedores es el laberinto circular de Barnes (Barnes, 1979). Consiste en una plataforma circular de madera de 120 cm de diámetro, que contiene 18 agujeros de 10 cm de diámetro distribuidos en la periferia y espaciados de manera equidistante a una distancia de 10 cm de la orilla; la plataforma se sitúa sobre una base a 72 cm del suelo. Debajo de uno de los agujeros se situó una caja de escape (27 x 12 x 9 cm), en el centro del laberinto se ubica una caja de salida (27 x 12 x 9 cm). Sobre el laberinto se ubican dos lámparas de luz blanca de 160W (Figura 9) para iluminar la plataforma y está basado en la tendencia natural de los roedores a buscar espacios oscuros y cerrados.

En la fase de habituación, los animales fueron habituados a la sala de experimentación iluminada con luz roja, a la caja de salida y a la caja de escape respectivamente. Veinticuatro

horas después de la fase de habituación se inició la fase de aprendizaje o de adquisición, que consistió de 4 pruebas diarias durante 3 días. Antes de cada ensayo, la sala de experimentación estuvo iluminada con luz roja; se introdujo al animal dentro de la caja de salida durante 30 segundos. Cada ensayo comenzaba cuando de manera simultánea se levantaba la caja de salida, se apagaba la luz roja y se encendían las luces blancas que representan el estímulo aversivo. En cada ensayo se le permitió al animal explorar el laberinto por 4 minutos, el ensayo finalizó cuando el animal se introdujo en la caja de escape, momento en el cual se apagaban las luces blancas y se volvía a encender la luz roja. Pasados los 4 minutos, si el animal no encontraba la caja de escape, el experimentador lo tomaba y lo introducía en la caja de escape durante 30 segundos; 5 días después fue realizada una prueba de memoria siguiendo el mismo procedimiento descrito antes.

Se grabaron todas las pruebas y a partir de estas se evaluó la latencia de escape (el tiempo desde que inició la prueba hasta el momento en que el animal entró en el agujero de escape), también fue evaluado el número de errores (exploraciones de agujeros distintos al que conduce a la caja de escape). Se consideró un error de exploración cuando el animal introducía la cabeza en un agujero flexionando los hombros, múltiples inclinaciones de cabeza consecutivas en un solo agujero se cuentan como un solo error, también saltar a través de un agujero incorrecto se consideró error.

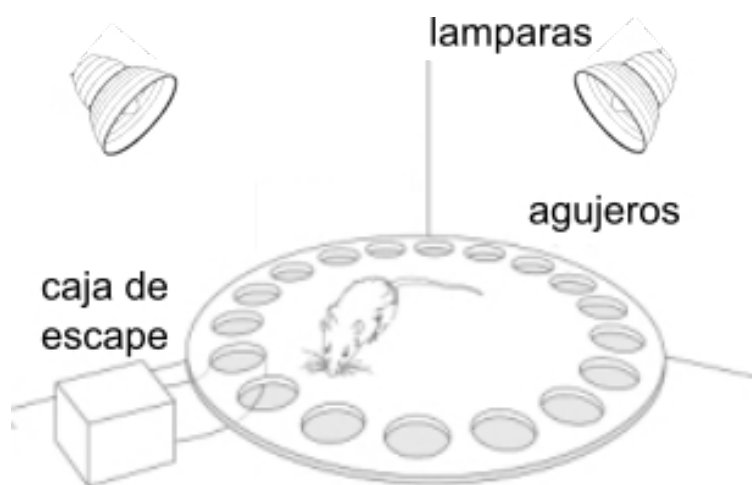


Figura 9.- Esquema del laberinto circular de Barnes, se puede observar el agujero que contiene la caja de escape, en la parte superior se encuentran las lamparas de 160W cada una, las cuales generan el estímulo aversivo.

5.2. Morfología Neuronal

5.2.1 Sujetos

Adicionalmente a los 2 grupos experimentales descritos anteriormente se añadieron 2 grupos más de 8 ratas macho y 8 ratas hembra que no fueron sometidas a ninguna prueba de conducta para realizar el análisis morfológico de neuronas CA1 y CA3 de hipocampo dorsal, teniendo como total 32 animales divididos en cuatro grupos (8 hembras control y 8 hembras experimentales, 8 machos control y 8 machos experimentales). Los grupos control se mantuvieron en cajas familiares bajo las condiciones antes mencionadas hasta el momento de su sacrificio. Todos los procedimientos en este estudio se realizaron de acuerdo con los lineamientos para la producción, el cuidado y el uso de animales de laboratorio publicados por SAGARPA México (NOM-062ZOO-1999). Se realizaron todos los esfuerzos para minimizar el sufrimiento animal y reducir el número de animales incluidos en el estudio.

5.2.2 Tinción Golgi-Cox

Una vez finalizadas las pruebas de aprendizaje y memoria, los cuatro grupos de ratas fueron anestesiados con pentobarbital sódico (70mg/Kg) y se les realizó una perfusión intracardiaca con solución salina (0.9%). Los cerebros fueron extraídos y se colocaron en solución Golgi-Cox durante 14 días en completa oscuridad (la solución Golgi-Cox fue renovada a los 7 días por nueva solución Golgi-Cox). Cumplidos los 14 días la solución Golgi-Cox se reemplazó por una solución de sacarosa al 30 %, en la cual los cerebros permanecieron durante 3 días antes de comenzarlos a cortar. Se realizaron cortes de 200 μ m al nivel del hipocampo dorsal, los cuales fueron obtenidos con un vibrotomo (vibrotomo manual NVSL). Los cortes fueron colocados en laminillas gelatinizadas al 2% en una cámara húmeda durante toda una noche.

Para el revelado de la tinción los cortes de tejido fueron tratados primero con agua

destilada durante 1 minuto, después se colocaron en hidróxido de amonio durante 30 minutos. Se volvieron a enjuagar en agua destilada por 1 minuto y se incubaron en fijador rápido Kodak por 30 minutos. Se sometieron a un último enjuague con agua destilada por 1 minuto y se procedió a deshidratarlas con soluciones cada vez más concentradas de alcoholes, al 50% (1 minuto), al 70% (1 minuto), al 95% (1 minuto) y dos baños al 100% durante 5 minutos (Gibb & Kolb, 1998). Por último las laminillas se aclararon por 15 minutos con xileno antes de ser montadas con resina sintética.

5.2.3 Análisis morfológico

Las células piramidales CA1 y CA3 del hipocampo dorsal se ubicaron con la ayuda del atlas de Paxinos y Watson (1998) y fueron observadas bajo un microscopio LEICA con cámara lucida (Figura 10). Las neuronas piramidales fueron identificadas por la característica forma triangular del soma, sus dendritas apicales extendidas hacia la superficie pial y sus numerosas espinas dendríticas. Se seleccionaron 10 neuronas para cada región del hipocampo dorsal por rata tomando en cuenta los siguientes criterios: (1) morfología piramidal clara, (2) localización del soma en hipocampo dorsal CA1 y dorsal CA3, (3) la neurona debía tener una buena impregnación, (4) la presencia de al menos tres dendritas basolaterales primarias, y (5) un árbol dendrítico apical completo. Cada neurona fue dibujada con una amplificación de 400x. Un total de 10 células (5 por hemisferio) fueron dibujadas para cada cerebro individual.



Figura 10.- Microscopio LEICA con cámara lucida (Tomado de Kolb *et al*; 1998).

La reconstrucción de cada árbol dendrítico completo permitió cuantificar la longitud dendrítica mediante un análisis de Sholl (Sholl, 1953). Los árboles apical y basolateral fueron analizados por separado. Una lámina transparente de círculos concéntricos equidistantes, que representan un intervalo de 10 μm se colocó sobre el centro del cuerpo celular y el número de intersecciones dendríticas fue usado para estimar la longitud dendrítica total y la arborización dendrítica (Figura 11). Cada segmento de rama fue contabilizado y sumado por orden de ramificación usando el procedimiento de Coleman y Riesen (1968): las ramas que emergen ya sea del soma (basolateral) o de la dendrita apical primaria (apical) son de primer orden, después de la primer bifurcación, las ramas son consideradas de segundo orden, y así sucesivamente. La cuantificación de cada orden de ramificación usando este método provee una indicación de la complejidad del árbol dendrítico. La estimación de la densidad de espinas dendríticas se realizó contando el número visible de espinas a lo largo del segmento y se expresó como el número de espinas/10 μm . Las espinas dendríticas del tercer orden de ramificación fueron dibujadas con una amplificación de 1000x en segmentos de al menos 10 μm de longitud.

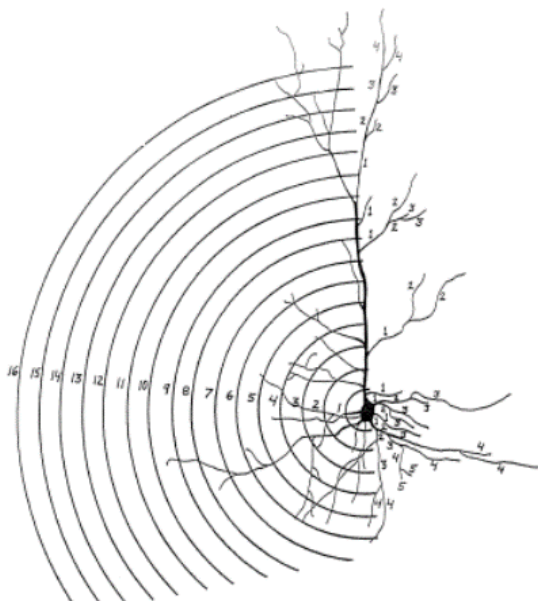


Figura 11.- Método de círculos concéntricos de Sholl (1953) para calcular la arborización dendrítica (Tomado de Kolb et al; 1998).

5.3. Análisis estadístico

5.3.1 Análisis de las pruebas cognitivas

En la prueba de actividad locomotora en campo abierto, se analizaron las siguientes variables: la distancia recorrida total, la distancia recorrida en intervalos de 5 minutos y el número de heces. Para la distancia recorrida total se empleo la prueba de *t* de *student* para muestras independientes con el sexo como variable independiente y la distancia recorrida como variable dependiente. La distancia recorrida en intervalos de 5 minutos se evaluó empleando un ANOVA de dos vías ($p=0.05$) con el sexo (macho o hembra), el intervalo (5,10,15 minutos) y la interacción (sexo*intervalo) como variables categóricas, además para determinar diferencias entre grupos se usó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Para analizar el número de heces, debido a que la variable es de tipo discreta se utilizó un modelo lineal generalizado con distribución de error Poisson con el número de heces como variable dependiente y el sexo (macho o hembra) como variable independiente.

Para analizar el tiempo de latencia tanto en el laberinto acuático de Morris como en el laberinto circular de Barnes y debido a que los datos no reunían las condiciones de normalidad e igualdad de varianzas para realizar un ANOVA, se optó por el análisis de supervivencia, el cual se aplicó usando el modelo de regresión de Tiempo de Falla Acelerado (TFA). Este modelo es usado cuando la duración de un evento es requerida y queremos comparar las curvas de probabilidad de un evento influenciado por el tiempo. El modelo estadístico incluye el sexo (machos o hembras) y los ensayos (13 ensayos) como variables independientes y al tiempo de latencia como variable dependiente. Se usó el Criterio de Información de Akaike (CIA; Crawley, 2007) para determinar si los datos se ajustaban a una distribución Weibull, exponencial, logistica o lognormal; el CIA nos indica qué distribución explica mejor el ajuste de los datos al modelo.

Para evaluar el número de errores cometidos en el laberinto circular de Barnes se empleó un modelo lineal mixto generalizado con distribución de error Poisson con el sexo

(macho y hembra) y el número de ensayos como factores fijos y la rata como factor aleatorio.

Para la prueba de reconocimiento de objetos, debido a que los datos del tiempo de exploración no se ajustaron a una distribución normal, se les realizó una prueba de transformación con el método de Boxcox (Krebs, 2013), una vez normalizados los datos, se realizó una ANOVA factorial ($p=0.05$), considerando tres factores como variables independientes: el sexo (macho o hembra), el tipo de objeto (nuevo o familiar) y la fase (30 minutos y 15 días). Posteriormente se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey para ver diferencias entre los grupos.

El índice de discriminación (d_2) corresponde a la habilidad de discriminar entre los objetos nuevos y familiares durante las fases t_2 y t_3 ; d_2 se expresa por medio de la siguiente fórmula:

$$d_2 = (b - a_3) / e_2$$

Donde:

b = tiempo de exploración del objeto nuevo

a_3 = tiempo de exploración del objeto familiar

e_2 = tiempo de exploración del objeto familiar / tiempo de exploración del objeto nuevo

El índice de discriminación (d_2) tiene un rango de -1 a 1, donde valores cercanos a -1 indican preferencia por el objeto familiar, 0 implica que no hubo preferencias por ningún objeto y valores cercanos a 1 indican preferencia por el objeto nuevo (Van Goethem *et al*; 2012).

Los datos obtenidos del índice de discriminación se analizaron con un ANOVA de dos vías ($p=0.05$) con el sexo (macho o hembra) y el tipo de memoria (corto plazo o largo plazo) como variables independientes, para ver diferencias entre niveles de las variables se usó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

5.3.2 Análisis de la Morfología

El análisis de Sholl se evaluó con un ANOVA de una vía, considerando cada círculo concéntrico por separado. Como variable independiente se consideró al tratamiento (macho control, hembra control, macho experimental, hembra experimental), y como variable dependiente fue el número de intersecciones dendríticas.

La longitud dendrítica por orden de ramificación y la longitud dendrítica total se analizó con un ANOVA de una vía, considerando a los tratamientos como variable independiente y a la longitud como variable dependiente.

La densidad de espinas dendríticas igualmente se evaluó con un ANOVA de una vía considerando como variable independiente a los tratamientos y como variable dependiente al número de espinas dendríticas.

Para todos los análisis se consideraron diferencias significativas cuando el valor de $p < 0.05$. Todo el procesamiento de datos y el análisis estadístico se realizó con la ayuda del programa R 3.2.2 (R Core Team, 2015) y los paquetes “survival” (Therneau, 2015) y “lme4” (Bates *et al*; 2015).

6. RESULTADOS

6.1. Pruebas Conductuales

6.1.1 Actividad locomotora en campo abierto

Los datos muestran diferencias entre la media de la distancia recorrida por las hembras ($\mu=34.875$, $\sigma= 10.362$, $n=8$) y la media de la distancia recorrida por los machos ($\mu=20.300$, $\sigma= 6.310$, $n=8$), ($t_{14}=3.3978$, $P=0.0055$), 95% IC [5.189, 23.960], siendo las ratas hembras las que recorrieron mayor distancia cuando se comparan con los machos (Figura 12).

La actividad locomotora separada en intervalos de 5 minutos (Figura 13) muestra diferencias significativas en los factores sexo ($P=2.25e-05$) e intervalo ($P=4.42e-08$). Tanto hembras como machos recorrieron mayor distancia en el primer intervalo y disminuyeron la distancia recorrida conforme pasaron los intervalos. No hay interacción significativa entre el sexo y los intervalos ($P=0.928$). Para conocer que grupos están presentando las diferencias se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey, la cual mostró que a pesar de que existen variaciones en la distancia recorrida entre intervalos, estos resultados no fueron estadísticamente significativos.

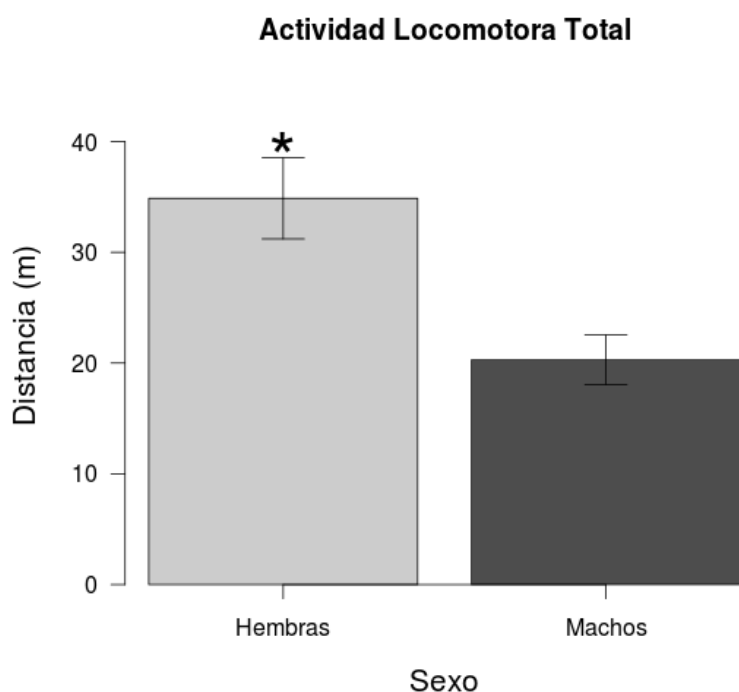


Figura 12.- Actividad Locomotora Total. Se muestra la distancia que recorrieron tanto machos como hembras. Las hembras recorrieron mayor distancia que los machos ($t=3.3978$, $P=0.0055$). Las barras representan el EE. El asterisco (*) indica diferencias significativas.

En cuanto a las heces (Figura 14), el análisis mostró que no existieron diferencias significativas entre el número de heces producidas por hembras y machos ($P=0.1145$).

Actividad Locomotora en Intervalos de 5 minutos

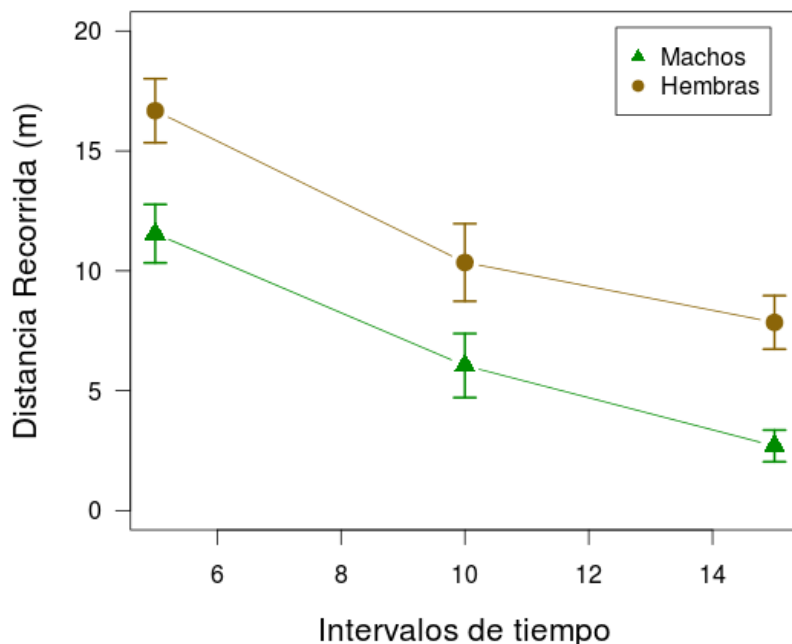


Figura 13.- Actividad Locomotora en Intervalos de 5 Minutos. Se observan las variaciones en la distancia recorrida tanto de machos y hembras en intervalos de 5 minutos. En cada intervalo los ambos, hembras y machos recorrieron menor distancia ($P=4.42e-08$). Las barras representan el EE.

Heces

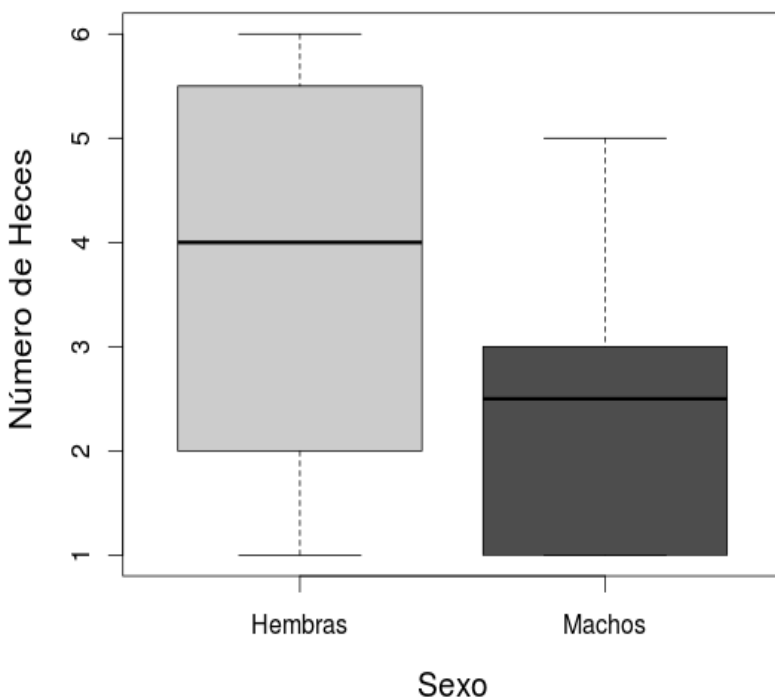


Figura 14.- Actividad Locomotora en Campo Abierto. Número de Heces. No se observan diferencias significativas en el número de heces producidas entre hembras y machos ($P=0.1145$). Las barras representan el EE.

6.1.2 Laberinto acuático de Morris

Los datos se ajustaron mejor a una distribución lognormal. El modelo de regresión (AFT) del análisis de supervivencia indica que no hay diferencias entre sexos ($P=0.2211$), también nos muestra que entre los ensayos hay diferencias significativas ($P<0.0001$) lo que nos indica que los animales fueron aprendiendo la localización de la plataforma a lo largo de los ensayos y por lo tanto invirtieron menos tiempo en alcanzarla y subirse a ella (Figura 15).

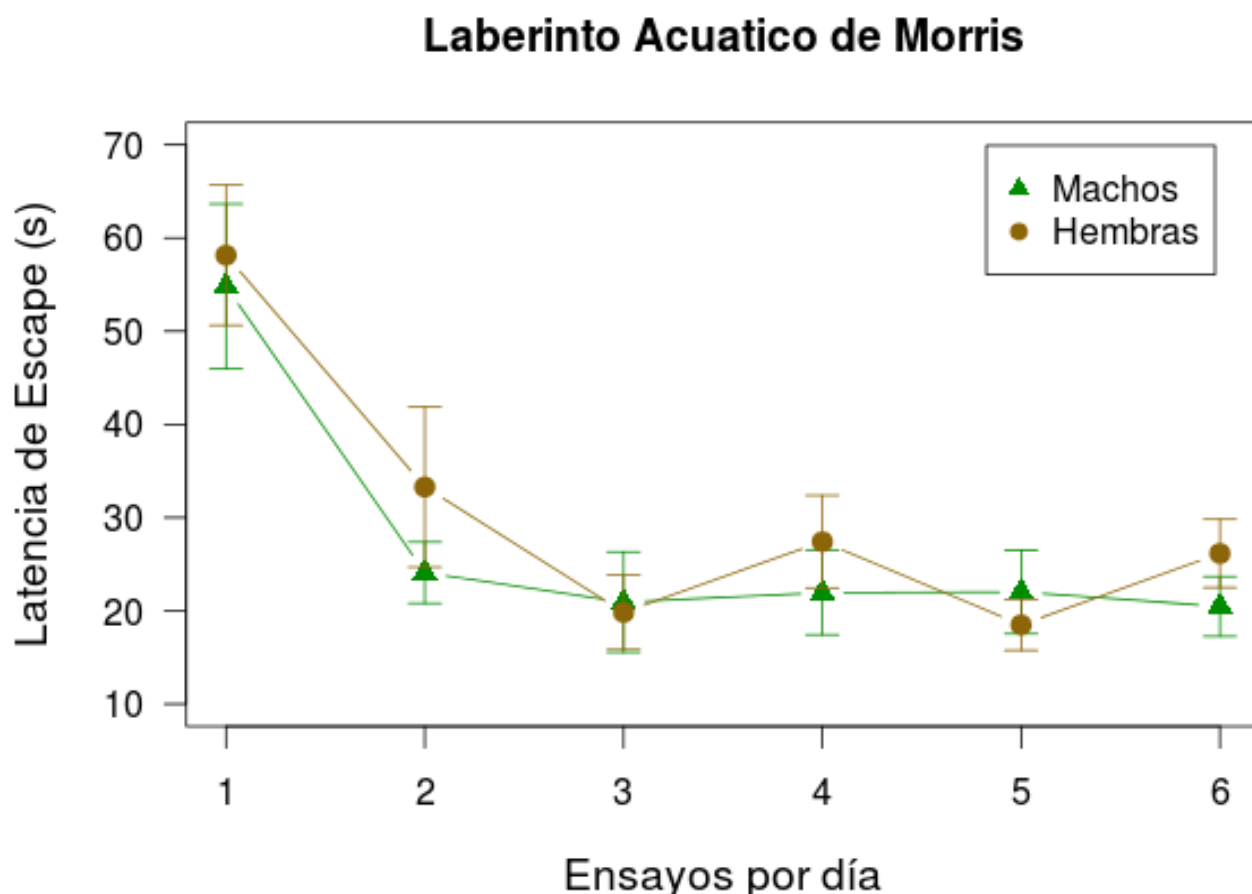


Figura 15.- Laberinto Acuático de Morris. Tanto machos como hembras aprendieron la ubicación de la plataforma a lo largo de los 24 ensayos, lo cual se puede observar entre los días que realizaron la prueba, a pesar que su desempeño muestra variaciones, estas no son estadísticamente significativas. Las barras representan el EE.

6.1.3 Laberinto circular de Barnes

En cuanto a la latencia de escape en el laberinto circular de Barnes, el modelo de regresión se ajustó mejor a una distribución lognormal. Nuevamente el sexo no influye en el desempeño de los animales en la prueba ($P=0.4086$), conforme van pasando los ensayos los animales van aprendiendo la localización del agujero con la caja de escape ($P<0.0001$), lo cual se ve reflejado en los tiempos de latencia cada vez menores que van teniendo (Figura 16).

Para el número de errores cometidos por los animales, el modelo lineal mixto generalizado muestra que el sexo no influye de manera significativa sobre los errores que cometen las ratas ($P=0.1034$), aunque entre ensayo y ensayo hay una diferencia significativa ($P<0.0001$), lo que indica que hembras y machos cometieron menos errores conforme pasaron los ensayos; la interacción del sexo y los ensayos no muestra diferencias significativas ($P=0.7534$) (Figura 17).

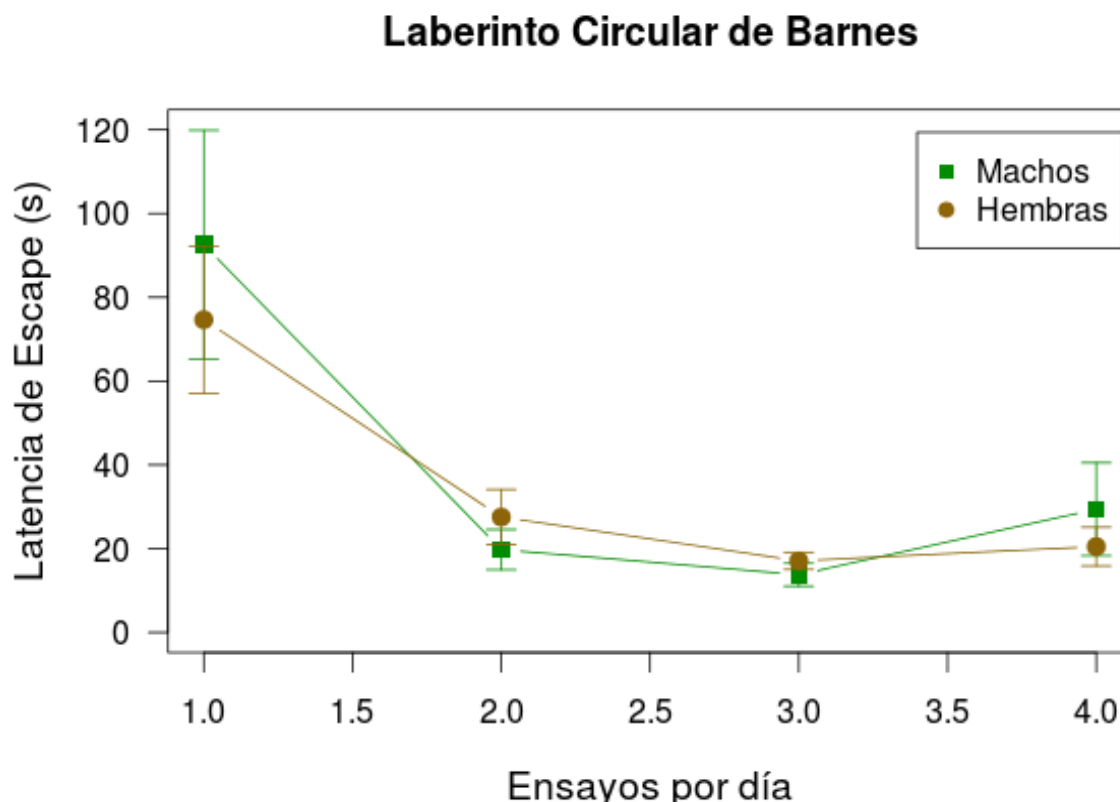


Figura 16.- Laberinto Circular de Barnes. El desempeño de machos y hembras fue similar a lo largo de los días de pruebas. Las barras representan el EE.

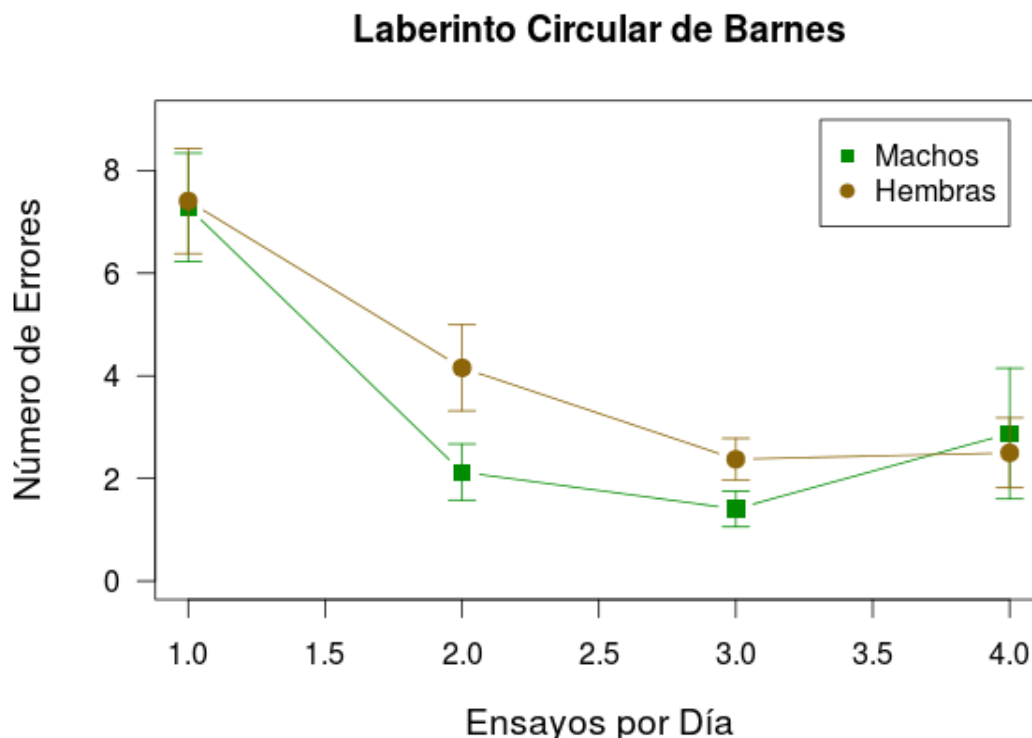


Figura 17.- Número de Errores en el Laberinto Circular de Barnes. Conforme pasaron los ensayos los animales cometieron un menor número de errores. Las barras representan el EE.

6.1.4 Prueba de reconocimiento de objetos

El sexo no influye en el desempeño de los animales en esta prueba ($P=0.8644$), pero el tipo de objeto (nuevo o familiar) sí presenta diferencias significativas ($P<0.0001$), lo que nos indica que los animales sí están teniendo preferencia por el objeto novedoso; la fase de memoria (corto plazo o largo plazo) también esta influyendo en los resultados de la prueba ($P=0.0028$), ninguna de las interacciones (sexo*objeto, sexo*fase, objeto*fase y sexo*objeto*fase) es significativa. Para conocer qué grupos están presentando diferencias se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey, la que nos indica que para el tipo de objeto hay diferencias entre el tiempo de exploración del objeto nuevo respecto al objeto familiar tanto en hembras ($P<0.0001$) como en machos ($P<0.0001$). Para la fase de memoria, la prueba *post hoc* muestra que los animales tanto a los 30 minutos ($P<0.0001$) como a lo 15 días ($P<0.0001$) están diferenciando entre el objeto nuevo y el familiar (Figuras 18 y 19).

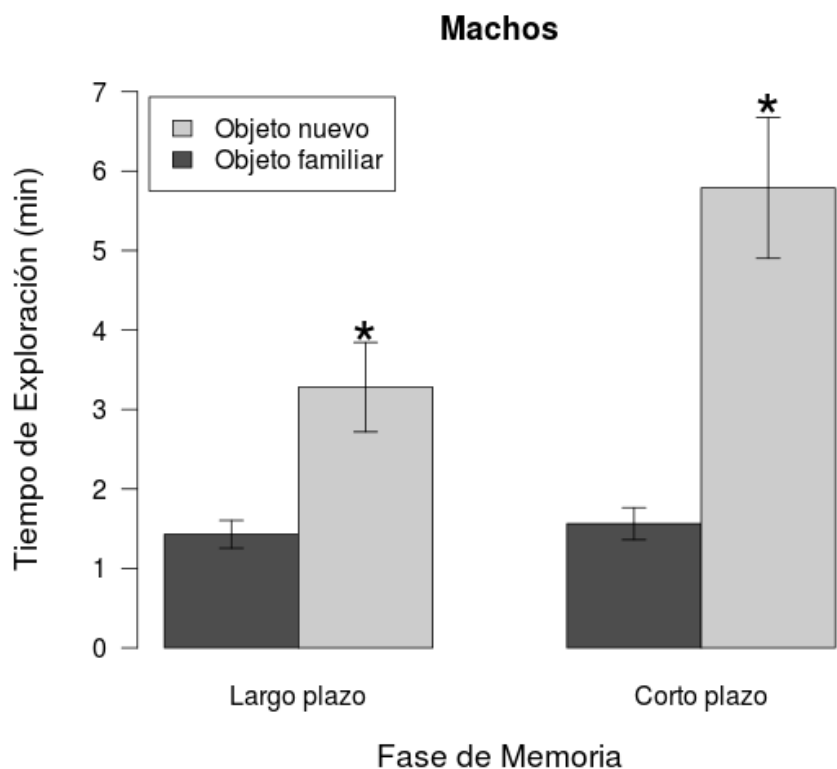


Figura 18.- Prueba de Reconocimiento de Objetos en Machos. Los animales pasaron más tiempo explorando los objetos nuevos. El asterisco (*) indica una $P < 0.05$. Las barras representan el EE.

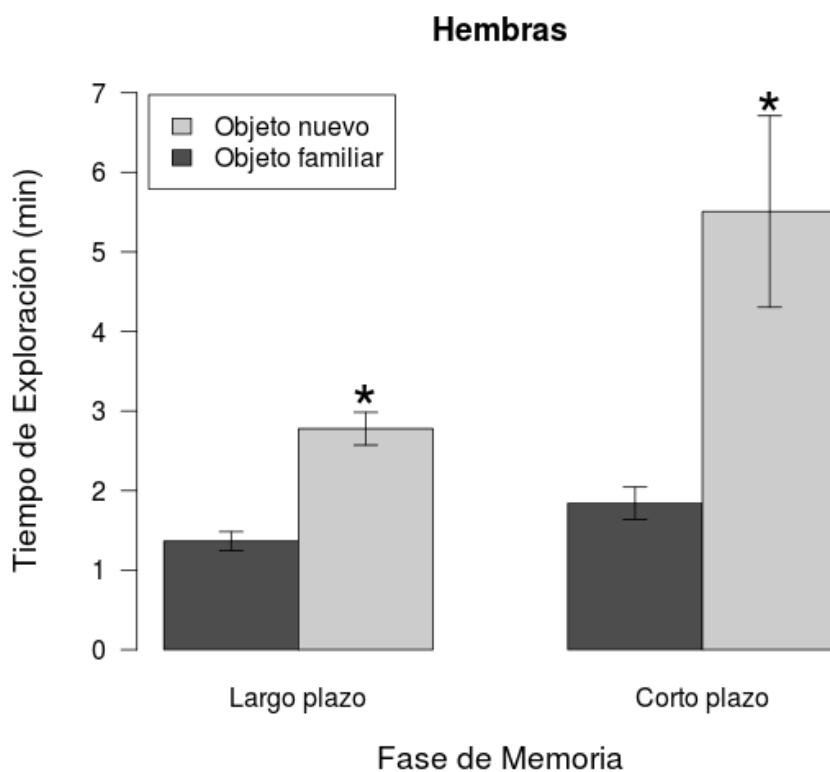


Figura 19.- Prueba de Reconocimiento de Objetos en Hembras. Las hembras exploraron en mayor medida los objetos nuevos en ambas fases de memoria. El asterisco (*) indica una $P < 0.05$. Las barras representan el EE.

Para el índice de Discriminación (Figura 20), el análisis de varianza (ANOVA) muestra que el efecto del sexo ($P=0.13011$) no es diferente en la preferencia que presentan los animales a los objetos tanto en la fase de memoria a corto plazo como en la memoria a largo plazo, pero el tipo de memoria sí influye en las diferencias del índice de reconocimiento ($P=0.00251$). La prueba *post hoc* de Tukey muestra que la preferencia que presentan los animales por el objeto novedoso disminuye en la fase de memoria a largo plazo con relación a la fase de memoria a corto plazo, lo cual presenta diferencias significativas en machos ($P=0.02837$) pero no en hembras ($P=0.4761$).

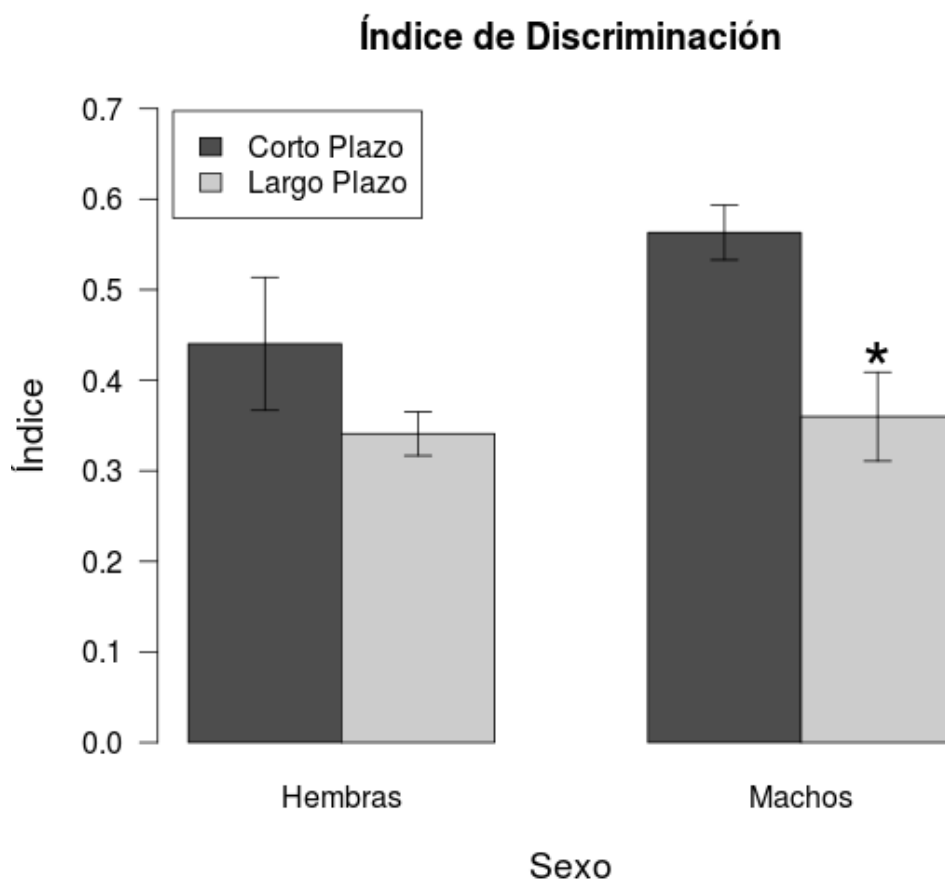


Figura 20.- Índice de Discriminación (d_2) en la Prueba de Reconocimiento de Objetos. Se observa una disminución en el índice conforme a la fase de la memoria, aunque solo resulta significativo en los machos. El asterisco (*) representa una $P < 0.05$. Las barras representan el EE.

6.2 Morfología Neuronal

Se logró una adecuada impregnación de la tinción Golgi-Cox en las neuronas (Figura 21) de la región CA1. Se pueden observar claramente los árboles basolaterales y apicales.

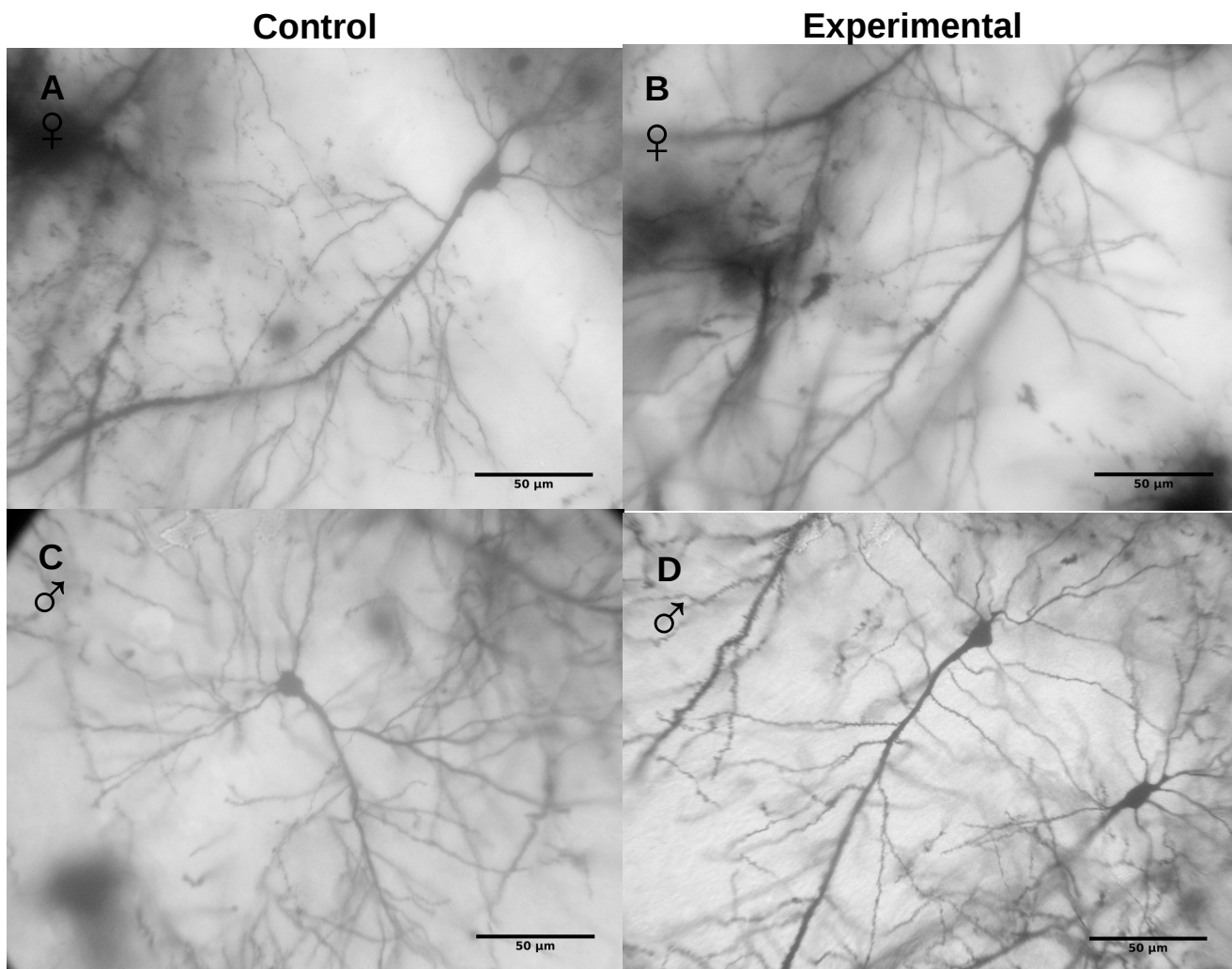


Figura 21.- **Microfotografías de neuronas piramidales CA1.** A) Neurona piramidal CA1 de Hembras Control. B) Neurona piramidal CA1 de Hembras Experimental. C) Neurona piramidal CA1 de Machos Control. D) Neurona piramidal de Machos Experimental. Nótese que la arborización apical de HE y ME presenta mayor longitud en sus ramificaciones respecto de los grupos control. La magnificación en las fotografías de las neuronas es de 400x en el microscopio y un zoom de 1.6x en la cámara fotográfica. La barra representa una escala de 50 µm. Este ♀ símbolo representa Hembras y este ♂ representa Machos.

Asimismo se muestran los segmentos dendríticos con espinas (Figura 22) de la región CA1 en los cuatro grupos. Se observan los segmentos dendríticos de las hembras control y hembras experimental (Figura 22A y Figura 22B), así como de los machos control y machos experimental (Figura 22C y Figura 22D).

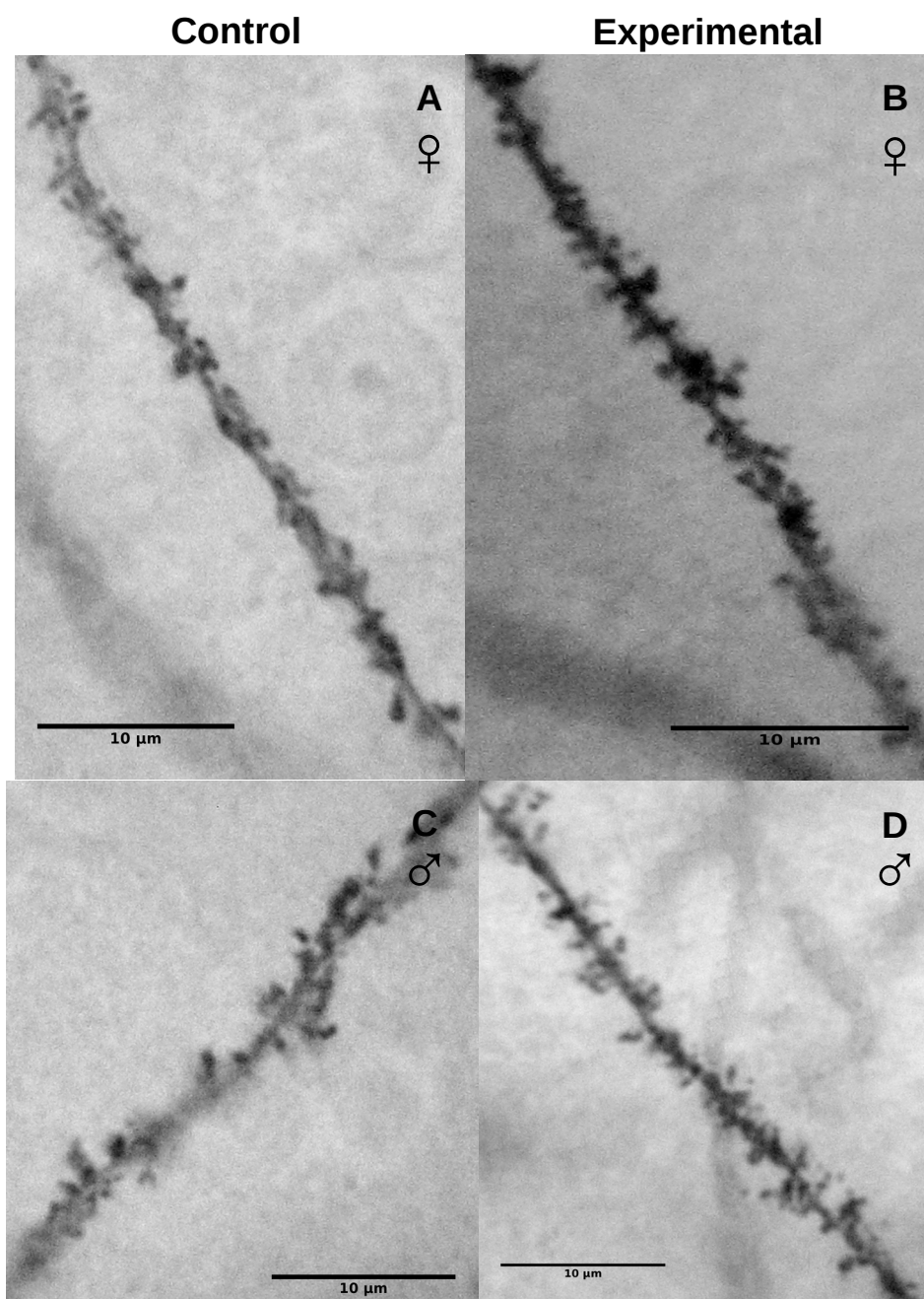


Figura 22.- **Espinas dendríticas de la región CA1.** A) Segmento dendrítico de Hembras Control. B) Segmento dendrítico de Hembras Experimental. C) Segmento dendrítico de Machos Control. D) Segmento dendrítico de Machos Experimental. Obsérvese que los segmentos dendríticos de los grupos experimentales presentan mayor número de espinas dendríticas que los segmentos de los grupos control. La magnificación en las fotografías de las espinas es de 1000x en el microscopio y un zoom de 4x en la cámara fotográfica. La barra representa una escala de 10 µm. Este ♀ símbolo representa Hembras y este ♂ representa Machos.

Igualmente se logró una adecuada impregnación de la tinción Golgi-Cox en las neuronas de la región CA3 (Figura 23). Se pueden observar claramente los árboles basolaterales y apicales.

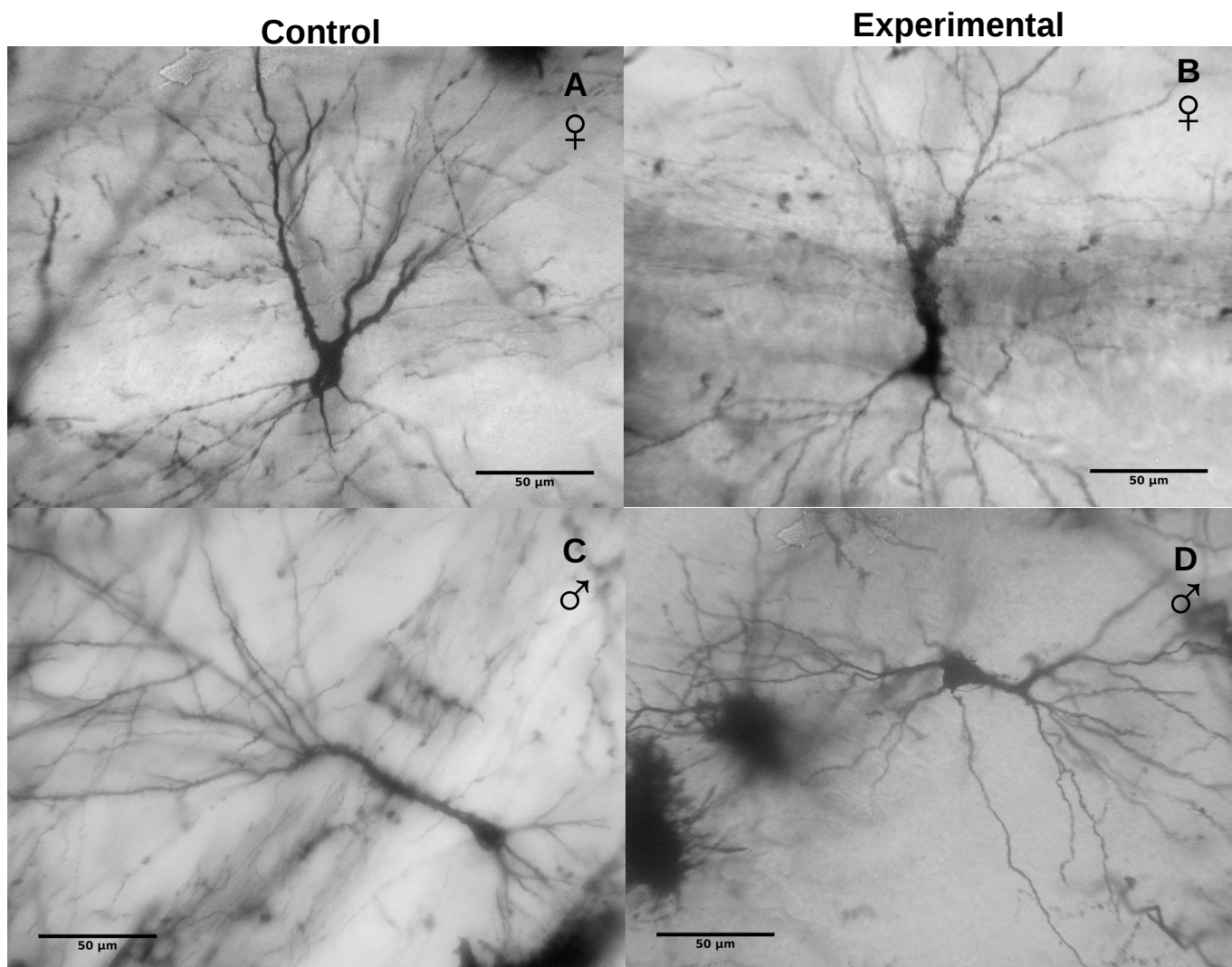


Figura 23.- **Microfotografía de neuronas piramidales CA3.** A) Neurona piramidal CA3 de Hembras Control. B) Neurona piramidal CA3 de Hembras Experimental. C) Neurona piramidal CA3 de Machos Control. D) Neurona piramidal CA3 de Machos Experimental. Nótese que en las neuronas CA3 tanto la arborización apical como basal es muy similar entre los grupos. La magnificación en las fotografías de las neuronas es de 400x en el microscopio y un zoom de 1.6x en la cámara fotográfica. La barra representa una escala de 50 μm. Este ♀ símbolo representa Hembras y este ♂ representa Machos.

Se observan los segmentos dendríticos con espinas (Figura 24) de la región CA3 en los cuatro grupos. Se muestran los segmentos dendríticos de las hembras control y experimentales (Figura 24A y Figura 24B), así como de los machos control y experimental (Figura 24C y Figura 24D).

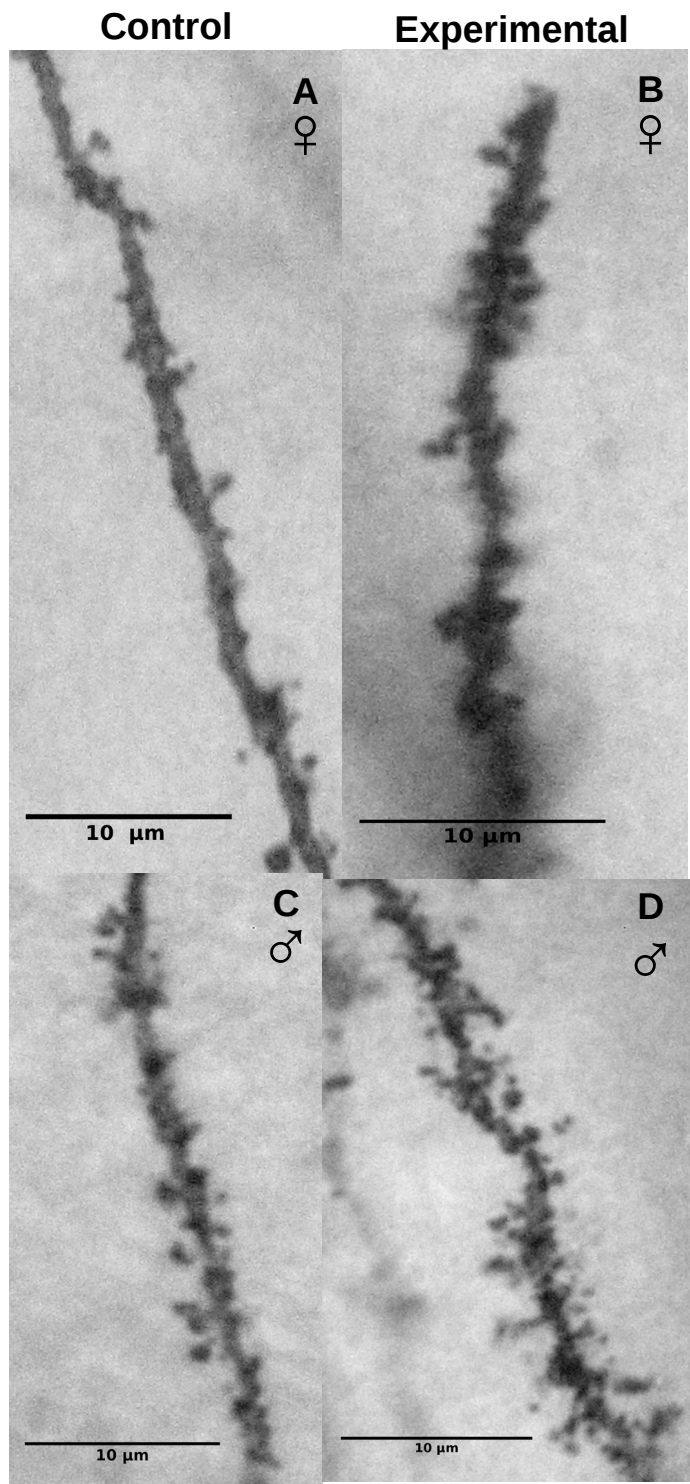


Figura 24.- **Espinas dendríticas de la región CA3.** A) Segmento dendrítico de Hembras Control. B) Segmento dendrítico de Hembras Experimental. C) Segmento dendrítico de Machos Control. D) Segmento dendrítico de Machos Experimental. Obsérvese que los segmentos dendríticos de los grupos experimentales presentan mayor número de espinas dendríticas que los segmentos de los grupos control. La magnificación en las fotografías de las espinas es de 1000x en el microscopio y un zoom de 4x en la cámara fotográfica. La barra representa una escala de 10 μm. Este ♀ símbolo representa Hembras y este ♂ representa Machos.

6.2.1 Análisis de Sholl

Para la Arborización apical de las neuronas CA1 del hipocampo, el ANOVA mostró que las hembras experimentales tuvieron un incremento del número de intersecciones dendríticas respecto de las hembras control (Figura 25A) en los círculos concéntricos **2** (P=0.0368), **6** (P=0.0369), **8** (P=0.0413), **11** (P=0.0423), **12** (P=0.0144) y **13** (P=0.0278), mientras que los machos experimentales mostraron incrementos en el número de intersecciones dendríticas respecto de los machos control (Figura 25B) en los círculos concéntricos **13** (P=0.0371), **14** (P=0.0194), **15** (P=0.0199), **16** (P=0.0031), **17** (P=0.0049), **18** (P=0.0011), **19** (P=0.0080), **20** (P=0.0376), **21** (P=0.0409) y **23** (P=0.0370).

Arborización Apical CA1

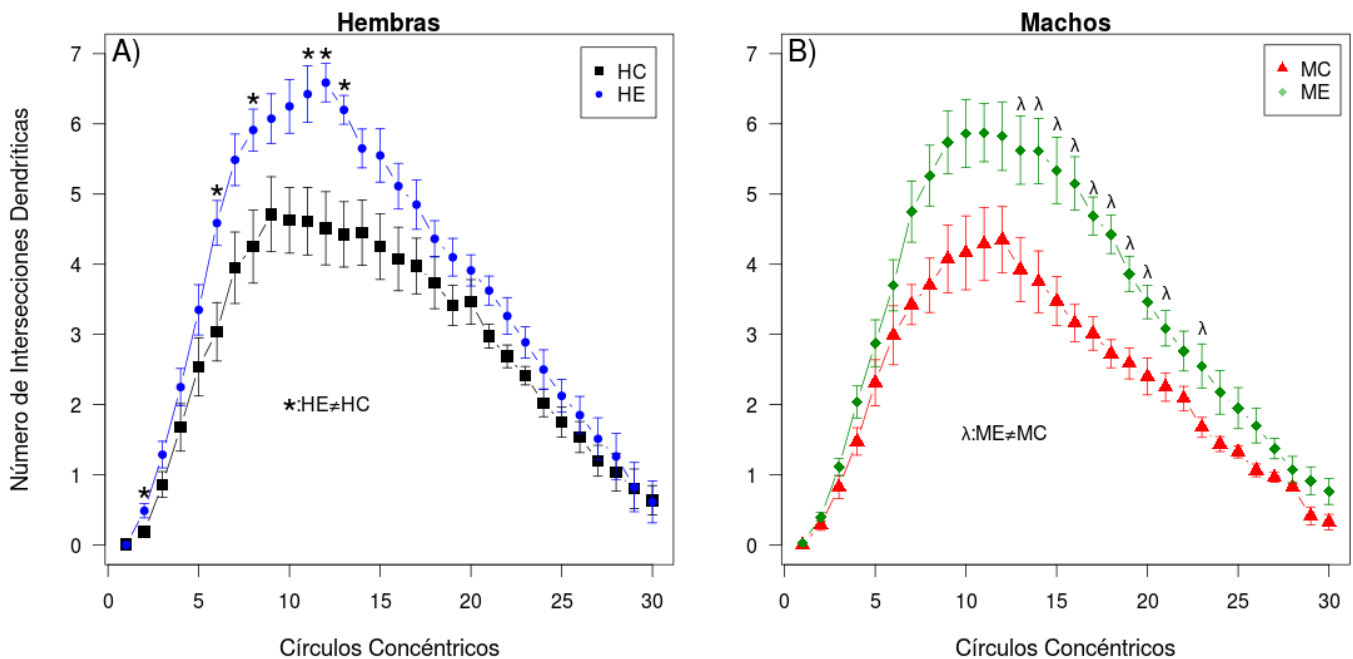
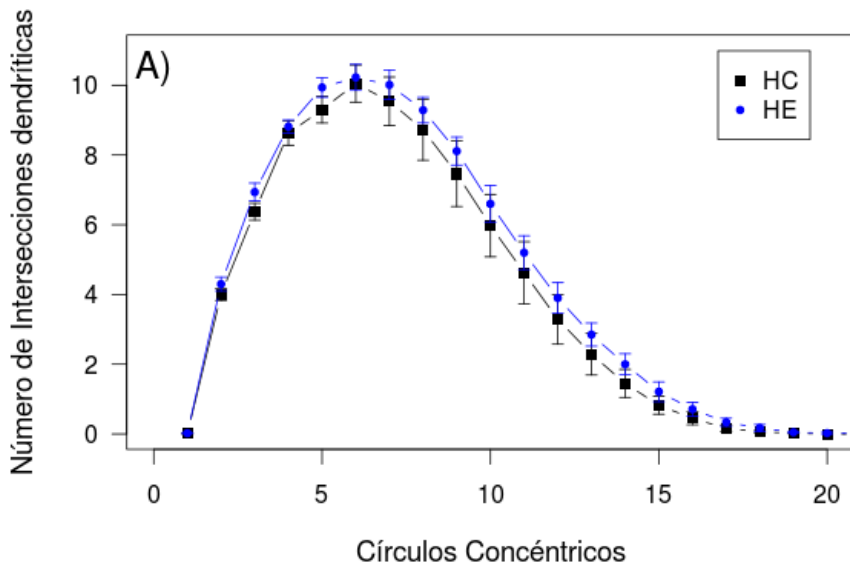


Figura 25.- **Neuronas CA1, Arborización Apical.** A) Se observan incrementos en el número de intersecciones dendríticas en las hembras que realizaron las pruebas. B) Igualmente los Machos Experimentales presentaron incrementos después de realizar las pruebas cognitivas. Los * representan una $P < 0.05$ entre hembras experimental y hembras control, las λ representan una $P < 0.05$ entre machos experimental y machos control, las δ representan una $p < 0.05$ entre machos control y hembras control. Las barras representan el EE. HC: Hembras Control, HE: Hembras Experimental, MC: Machos Control, ME: Machos Experimental.

En cuanto a la arborización basal de las neuronas hipocampales CA1, el análisis reveló que solamente existieron incrementos en el número de intersecciones dendríticas entre los machos experimentales comparados con los machos control (Figura 26B) en los círculos concéntricos: 5 ($P=0.0067$), 6 (0.0235) y 7 ($P=0.0144$).

Arborización Basal CA1

Hembras



Machos

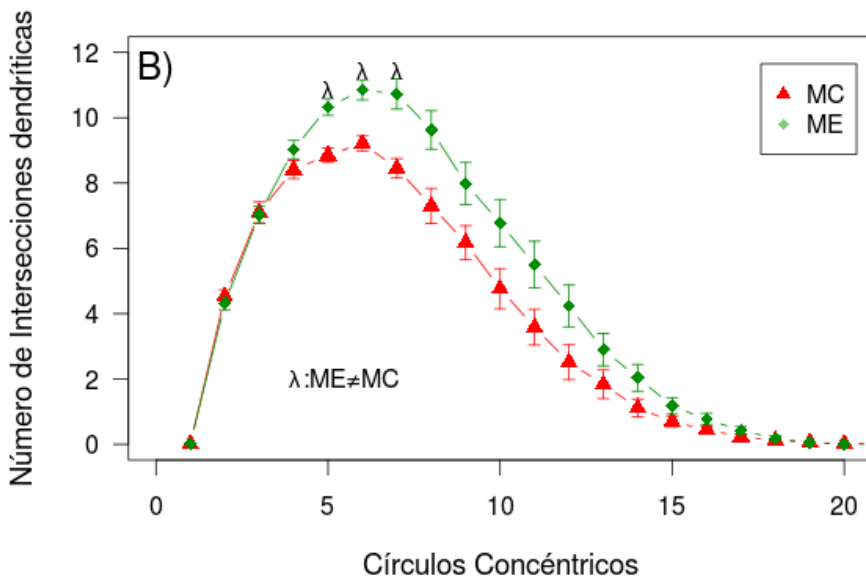
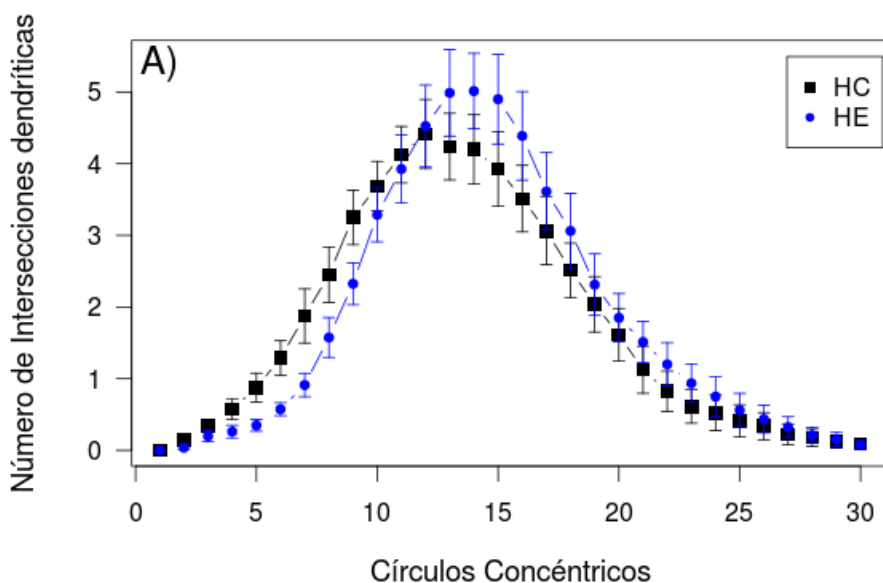


Figura 26.- **Neuronas CA1, Arborización Basal.** A) Las hembras experimental presentaron poco porcentaje de incrementos en el número de intersecciones dendríticas. B) Los Machos Experimental mostraron un porcentaje mayor de incrementos. Las λ representan una $P < 0.05$ entre machos experimental y machos control. Las barras representan el EE. HC: Hembras Control, HE: Hembras Experimental, MC: Machos Control, ME: Machos Experimental.

Para la arborización apical de las neuronas CA3 del hipocampo dorsal (Figura 27), el análisis no mostró incrementos ni decrementos estadísticamente significativo entre ningún grupo.

Arborización Apical CA3 Hembras



Machos

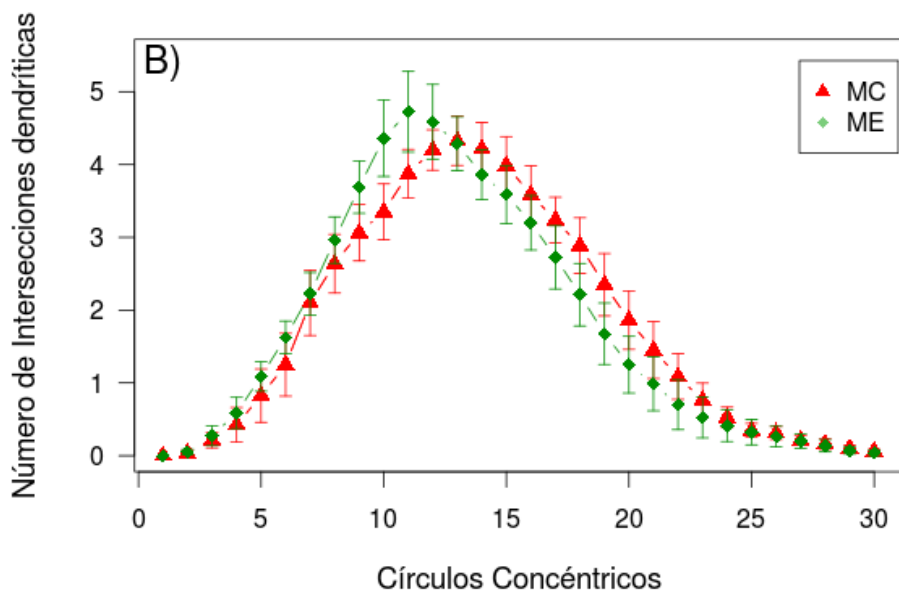
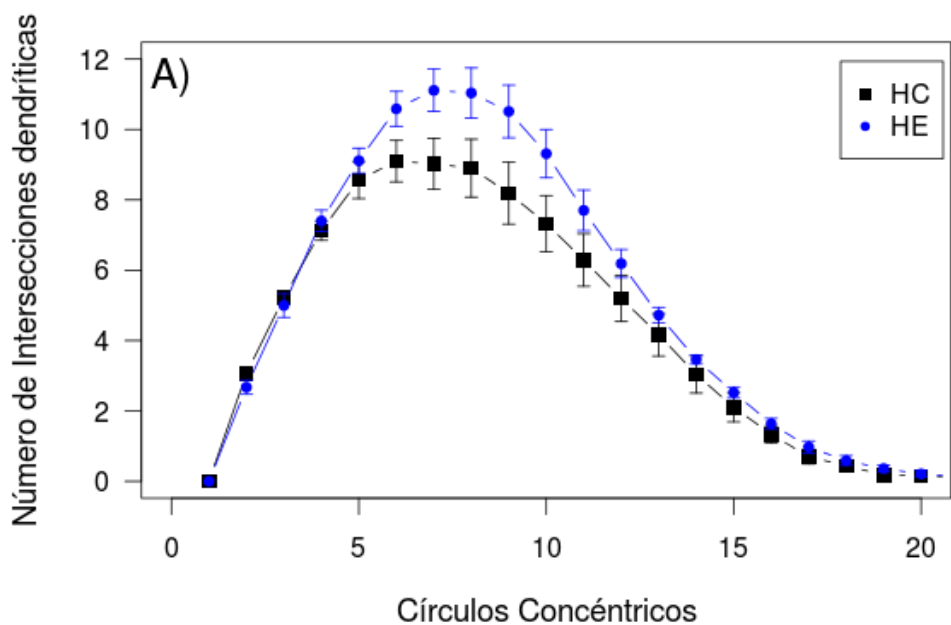


Figura 27.- **Neuronas CA3, Arborización Apical.** A) Entre Hembras experimental y Hembras control no se aprecian incrementos ni decrementos. B) El número de intersecciones entre Machos Experimental y Machos Control es muy similar. Las barras representan el EE. HC: Hembras Control, HE: Hembras Experimental, MC: Machos Control, ME: Machos Experimental.

En cuanto a la arborización basal de las neuronas hipocampales CA3 (Figura 28), el análisis reveló que no existieron incrementos o decrementos estadísticamente significativos entre ningún círculo concéntrico de ningún grupo.

Arborización Basal CA3 Hembras



Machos

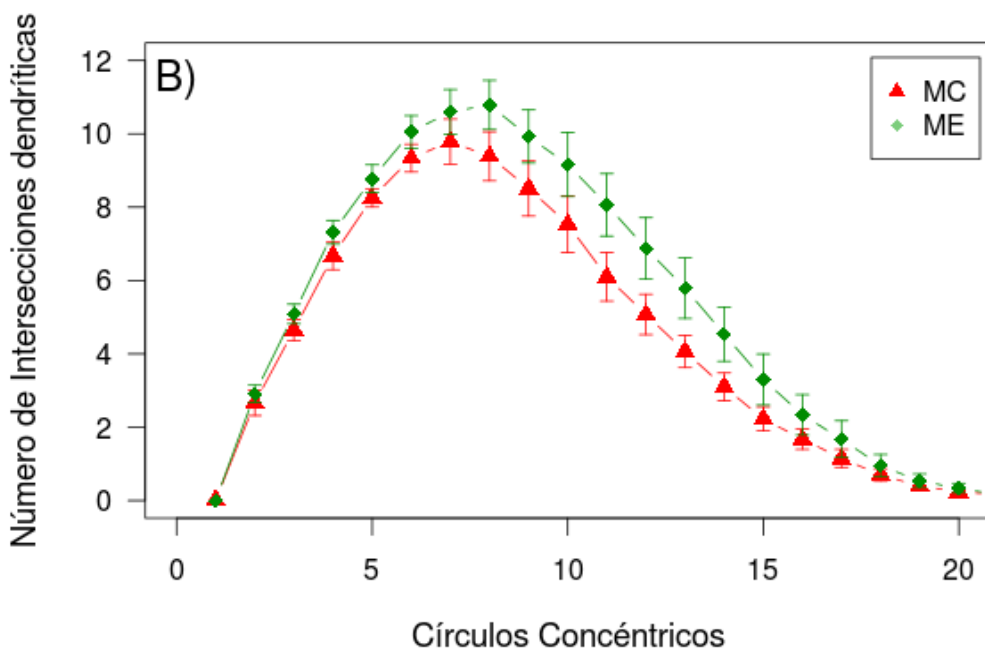


Figura 28.- **Neuronas CA3, Arborización Basal.** A) Las Hembras Experimental presentaron un porcentaje de incrementos sin embargo, este incremento no fue significativo. B) Igualmente los Machos Experimental mostraron un porcentaje mayor de intersecciones dendríticas. Las barras representan el EE. HC: Hembras Control, HE: Hembras Experimental, MC: Machos Control, ME: Machos Experimental.

6.2.2 Longitud Dendrítica por Orden de Ramificación

Para la arborización apical de las neuronas CA1 del hipocampo dorsal, el ANOVA mostró que la longitud de los órdenes de ramificación **1** ($P=0.0227$) y **3** ($P=0.0067$) incrementaron cuando comparamos a las hembras experimentales con las hembras control (Figura 29A). También mostró que los machos experimentales incrementaron su longitud dendrítica respecto de los machos control en el primer ($P=0.0003$) orden de ramificación (Figura 29B).

Arborización Apical CA1

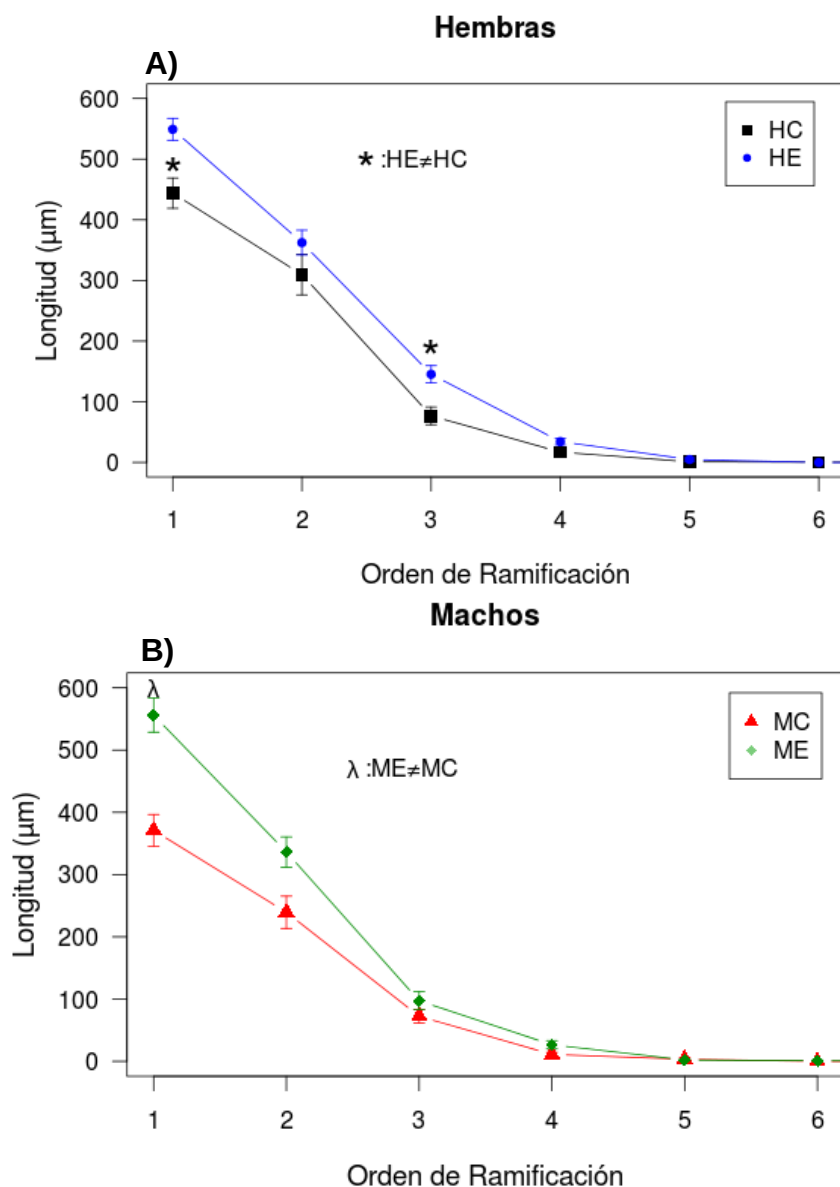


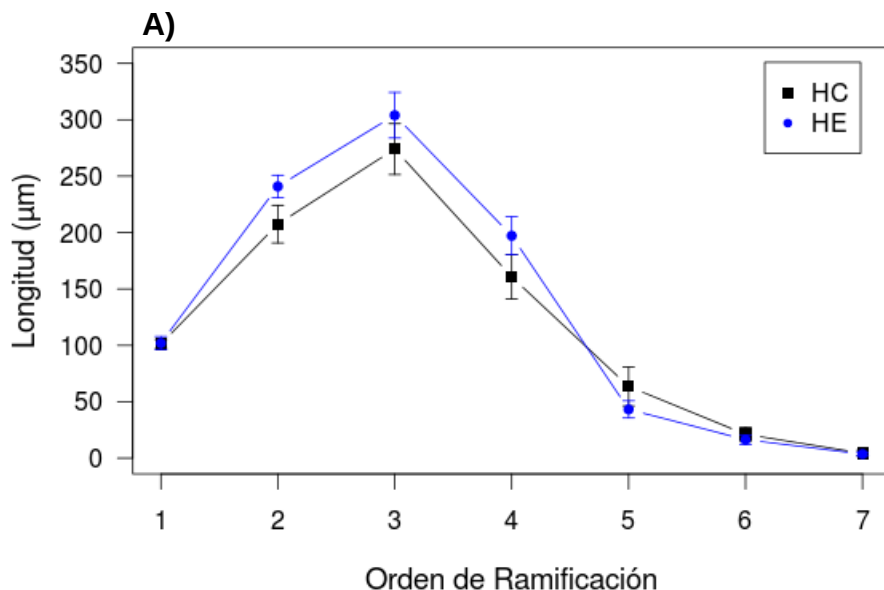
Figura 29.- Neuronas CA1. Longitud por Orden de Ramificación apical.

A) Las Hembras Experimental incrementaron su longitud dendrítica en dos ordenes de ramificación. B) Los Machos Experimental incrementaron solo en un orden de ramificación pero su porcentaje de incremento fue mayor que en hembras. * representan una $p < 0.05$ entre hembras experimentales y hembras control, las λ representan una $P < 0.05$ entre machos experimental y machos control. Las barras representan el EE. HC: Hembras Control, HE: Hembras Experimental, MC: Machos Control, ME: Machos Experimental.

Para la arborización basal de la región CA1, a pesar que se observan variaciones en la longitud dendrítica, el análisis indicó que no existieron incrementos ni decrementos estadísticamente significativos en la longitud dendrítica en ningún orden de ramificación entre ninguno de los grupos (Figura 30).

Arborización Basal CA1

Hembras



Machos

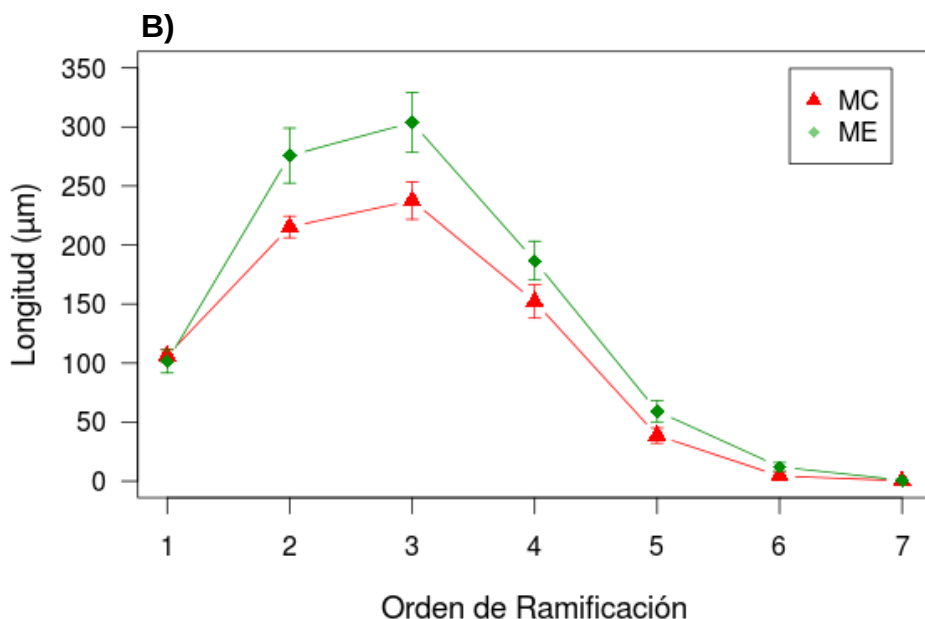
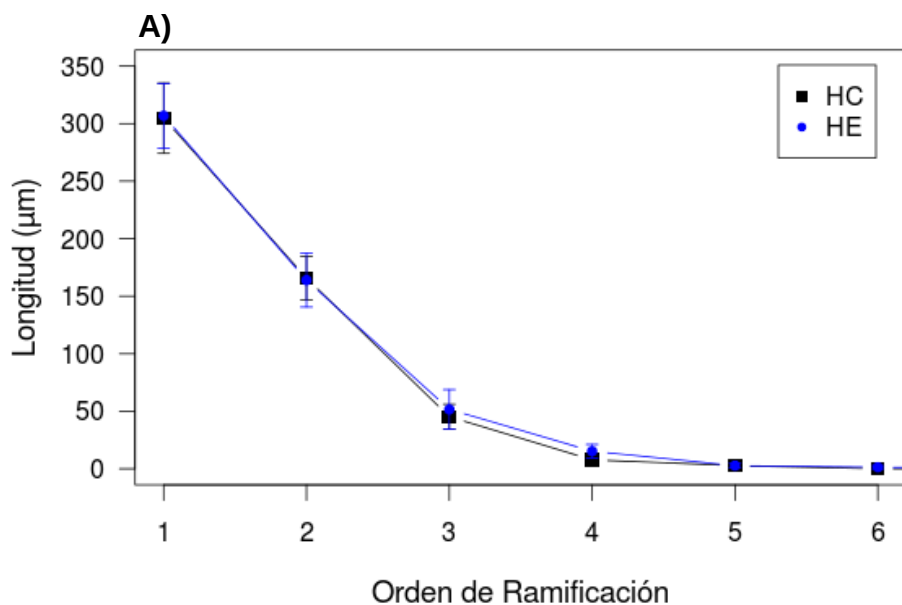


Figura 30.- **Neuronas CA1, Longitud por Orden de Ramificación basal.** A) En la Arborización basal se observan variaciones en la longitud. B) En machos el porcentaje de variaciones es mayor que en hembras. No existen diferencias significativas entre ningún grupo. Las barras representan el EE. HC: Hembras Control, HE: Hembras Experimental, MC: Machos Control, ME: Machos Experimental.

Igualmente para las arborizaciones apicales (Figura 31) y basales (Figura 32) de las neuronas CA3 del hipocampo dorsal, existieron variaciones en la longitud entre los grupos, sin embargo, el análisis mostró que no hay diferencias significativas en la longitud dendrítica por orden de ramificación entre ninguno de los grupos.

Arborización Apical CA3

Hembras



Machos

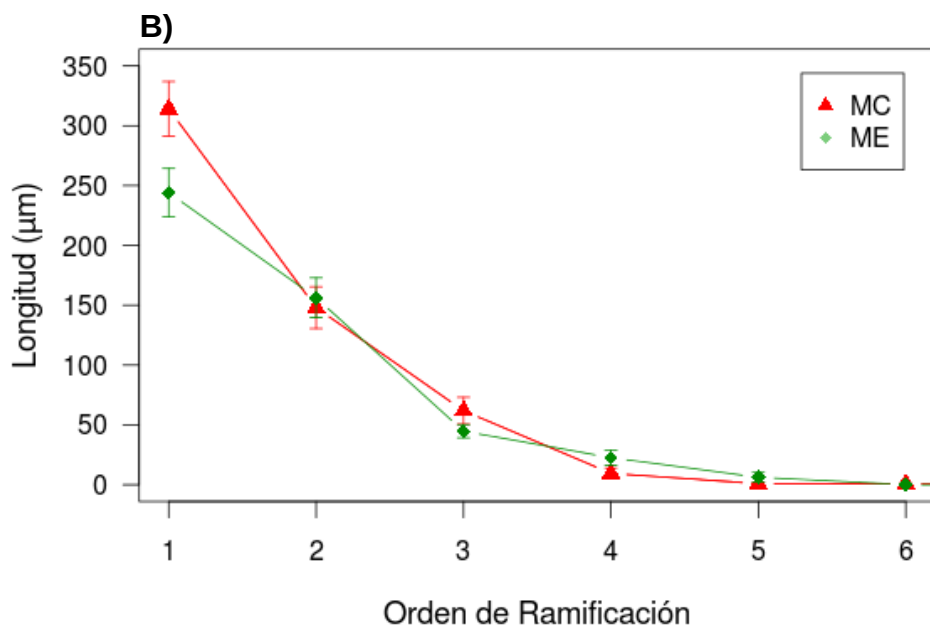


Figura 31.- **Neuronas CA3, Longitud por Orden de Ramificación apical.** A) La longitud dendrítica entre hembras Experimental y Control es prácticamente igual. B) Los Machos Experimentales presentan incremento en la longitud del primer orden de ramificación sin ser significativo. Las barras representan el EE. HC: Hembras Control, HE: Hembras Experimental, MC: Machos Control, ME: Machos Experimental.

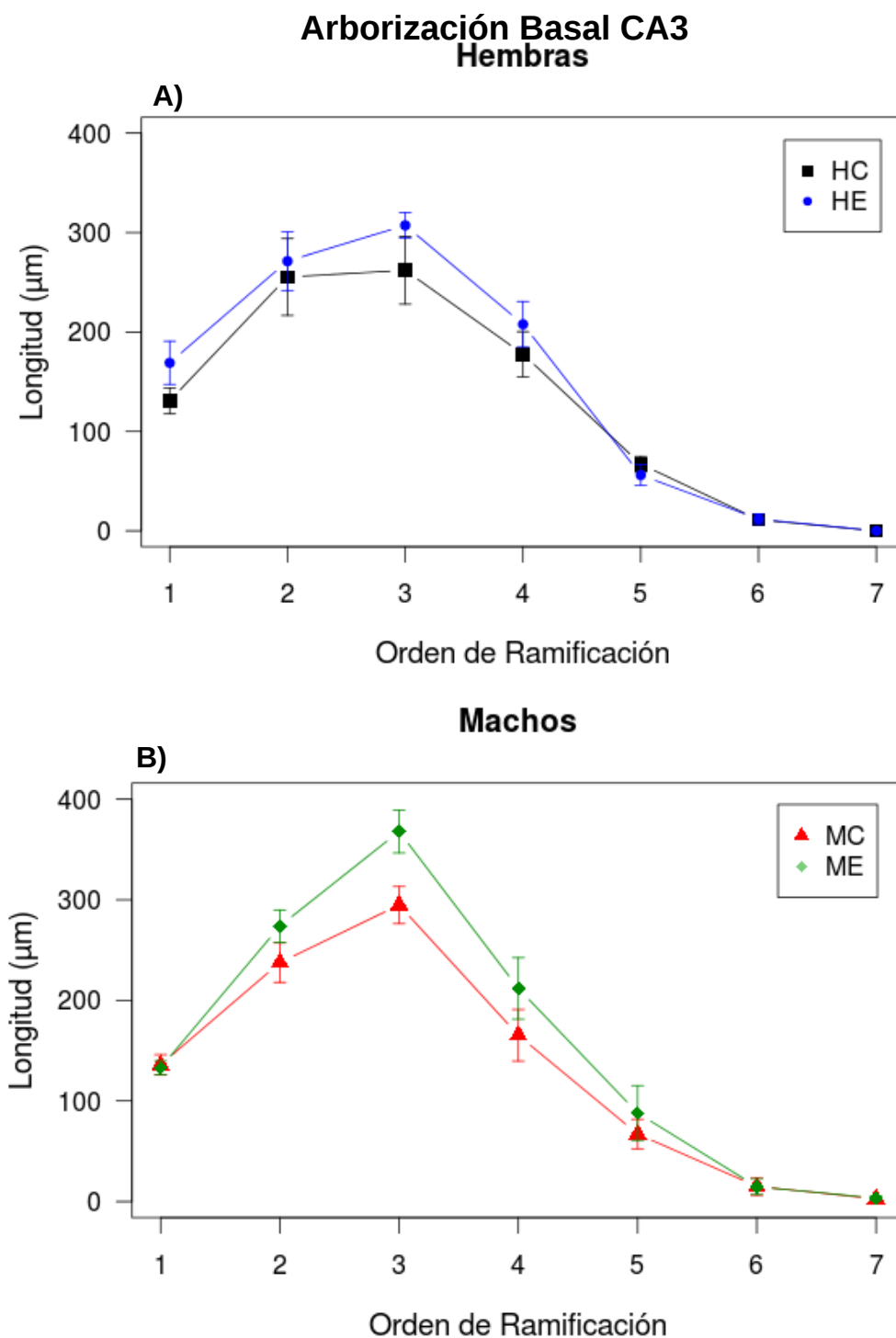


Figura 32.- **Neuronas CA3, Longitud por Orden de Ramificación basal.** A) Las Hembras Experimental presentaron un ligero incremento en la longitud. B) Los Machos también presentan incrementos en la longitud dendrítica. No existen diferencias significativas entre ningún grupo. Las barras representan el EE. HC: Hembras Control, HE: Hembras Experimental, MC: Machos Control, ME: Machos Experimental.

6.2.3 Longitud Dendrítica Total

En cuanto a la longitud dendrítica total, el ANOVA mostró que para la arborización apical de las neuronas CA1 (Figura 33A), el efecto del tratamiento fue significativo ($P=0.0001$), por lo que se realizó la prueba *post hoc* de Tukey, el cual reveló que las hembras experimentales incrementaron su longitud dendrítica respecto de las hembras control ($P=0.0243$) y que los machos experimentales también incrementaron la longitud dendrítica comparados con los machos control ($P=0.0025$). Sin embargo para la arborización basal de las neuronas CA1 (Figura 33B), la arborización apical de las neuronas CA3 (Figura 33C) y la arborización basal de las neuronas CA3 (Figura 33D) las longitudes dendríticas no presentaron diferencias significativas.

6.2.4 Densidad de Espinas Dendríticas

Para la densidad de espinas dendríticas, el ANOVA mostró que el efecto del tratamiento es significativo ($P<0.0001$), en la región apical de las neuronas CA1 (Figura 34A), el *post hoc* reveló que las hembras experimentales incrementaron la densidad de espinas respecto de las hembras control ($P=0.0054$) y que los machos experimentales también incrementaron la densidad de espinas en comparación con los machos control ($P=0.0002$). El análisis también mostró que el efecto del tratamiento es significativo ($P<0.0001$) en la región basal de las neuronas CA1 (Figura 34B), el *post hoc* encontró que tanto hembras experimentales ($P=0.0015$) como machos experimentales ($P=0.0006$) incrementaron la densidad de espinas dendríticas respecto de sus grupos controles.

La densidad de espinas dendríticas en la región apical de las neuronas CA3 (Figura 34C) es significativa ($P<0.0001$). La prueba de Tukey reveló que los hembras experimentales presentaron incrementos en la densidad de espinas con respecto a las hembras control ($P=0.0289$) y que la densidad de espinas dendríticas en machos experimentales incremento en comparación con los machos control ($P=0.0074$). Finalmente en la región basal de las neuronas CA3 (Figura 34D) el efecto del tratamiento es significativo ($P<0.0001$) y el *post hoc*

mostró que las hembras experimentales ($P=0.0011$) y que los machos experimentales ($P=0.0046$) presentaron incrementos estadísticamente significativos en la densidad de espinas dendríticas en comparación a sus grupos controles.

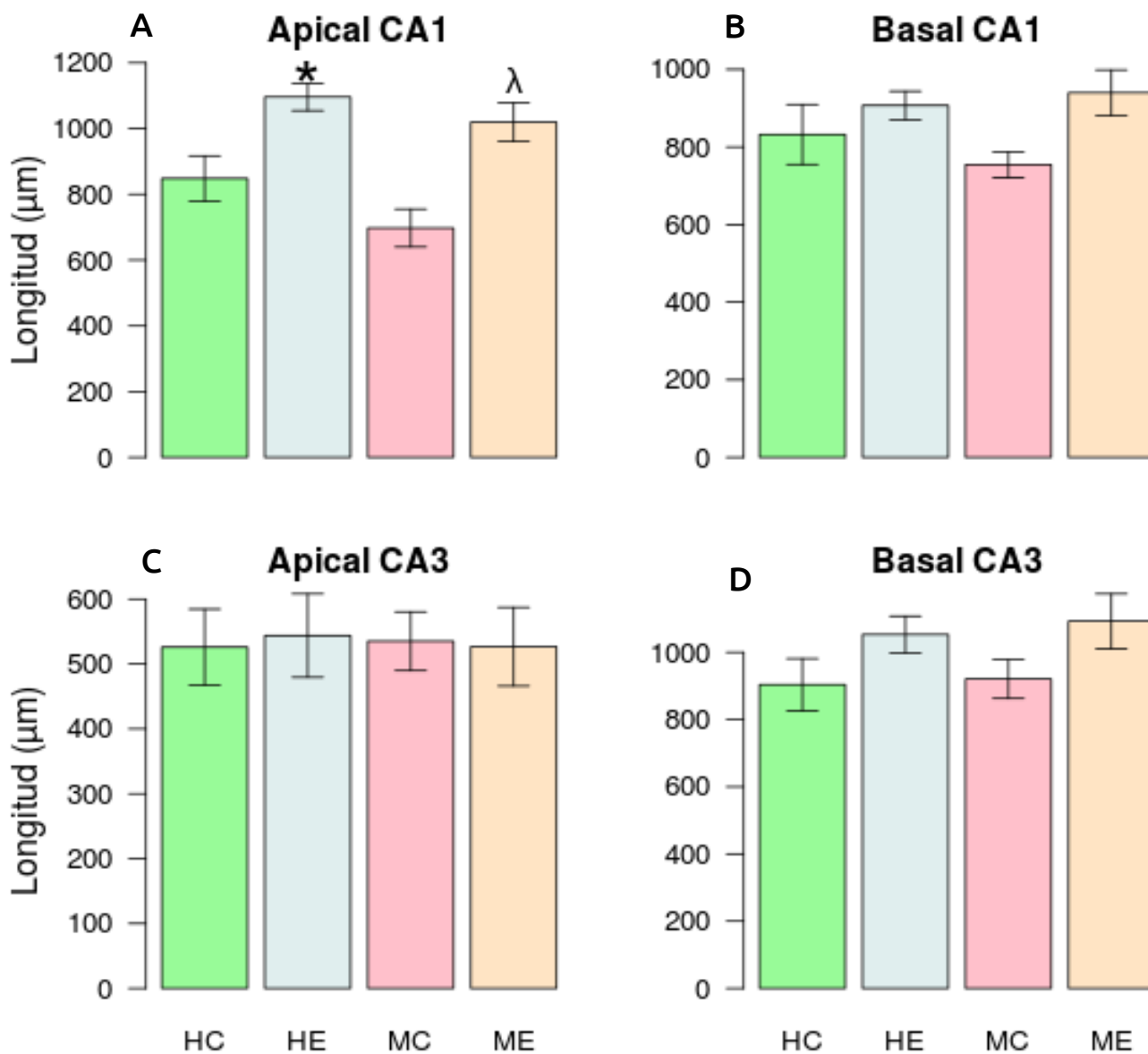


Figura 33.- Longitud Dendrítica Total. A) Región Apical CA1, B) Región Basal CA1, C) Región Apical CA3, D) Región Basal CA3. Los * representan una $P<0.05$ entre hembras experimentales y hembras control, λ representa una $P<0.05$ entre machos experimentales y machos control. Las barras representan el EE. HC: Hembras Control, HE: Hembras Experimental, MC: Machos Control, ME: Machos Experimental.

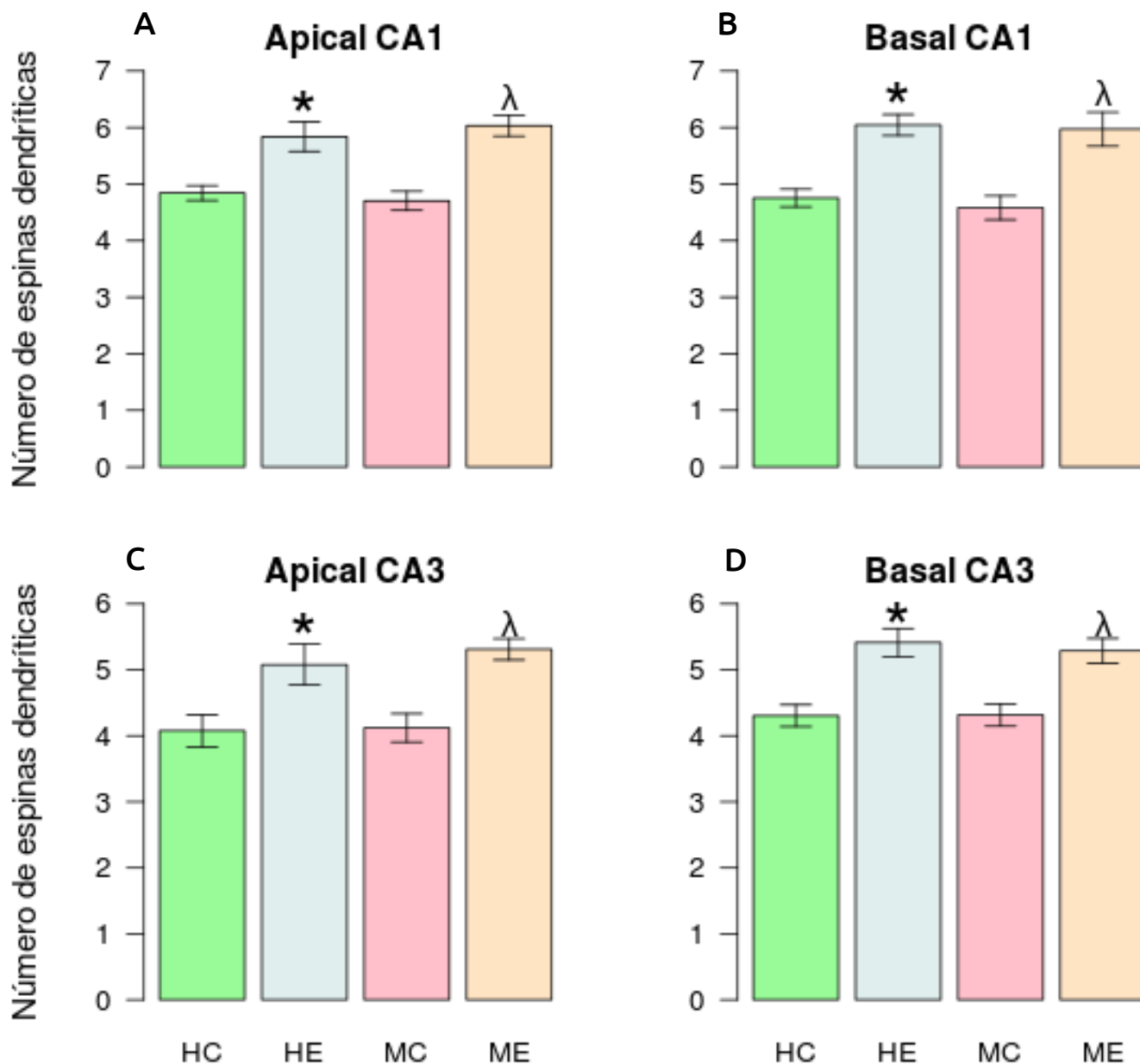


Figura 34.- Densidad de Espinas Dendríticas. A) Región Apical CA1, B) Región Basal CA1, C) Región Apical CA3, D) Región Basal CA3. Los * representan una $P < 0.05$ entre hembras experimentales y hembras control, λ representa una $P < 0.05$ entre machos experimentales y machos control. Las barras representan el EE. HC: Hembras Control, HE: Hembras Experimental, MC: Machos Control, ME: Machos Experimental.

En las siguientes tablas se presenta un resumen de los cambios observados por el efecto del entrenamiento cognitivo sobre la morfología del hipocampo dorsal de ratas macho y de ratas hembra. Se muestran el resumen de los cambio en la región CA1 (Tabla 1) y los cambios en la región CA3 (Tabla 2).

Tabla 1. Resultados del efecto del entrenamiento cognitivo sobre la región CA1

Sexo	Tratamiento	Región							
		Apical CA1				Basal CA1			
		Sholl	LOR	Total	Espinas	Sholl	LOR	Total	Espinas
Machos	Experimental	44.18% *	46.17% *	46.17% *	28.25% *	24.53% *	24.53% ns	24.50% ns	30.32% *
	Control	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Hembras	Experimental	29.91% *	29.12% *	29.24% *	20.59% *	8.93% ns	8.99% ns	8.99% ns	27.17% *
	Control	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

* : $p < 0.05$
ns: no significativo

Tabla 2. Resultados del efecto del entrenamiento cognitivo sobre la región CA3

Sexo	Tratamiento	Región							
		Apical CA3				Basal CA3			
		Sholl	LOR	Total	Espinas	Sholl	LOR	Total	Espinas
Machos	Experimental	-1.53% ns	-11.43% ns	-1.57% ns	28.90% *	18.98% ns	18.98% ns	18.69% ns	22.52% *
	Control	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Hembras	Experimental	3.20% ns	2.96% ns	3.39% ns	24.58% *	16.49% ns	13.17% ns	16.49% ns	25.76% *
	Control	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

* : $p < 0.05$
ns: no significativo

7. Discusión

En este estudio se analizó el desempeño de ratas Long Evans en las pruebas conductuales de el laberinto acuático de Morris, el laberinto circular de Barnes y la prueba de reconocimiento de objetos tanto de ratas hembras como de ratas machos quienes se desempeñaron de manera similar. Únicamente en la prueba de actividad locomotora en campo abierto obtuvimos desempeños diferentes entre los sexos, donde observamos que las hembras recorrieron una distancia mayor que los machos, lo cual concuerda con varios autores que mencionan que las hembras son generalmente más activas que los machos (Valle, 1970., Masur *et al*; 1980).

La prueba de actividad locomotora en campo abierto ha sido utilizada ampliamente como una medida de “emocionalidad” o “miedo” (Archer, 1973), de esta manera las diferencias en la locomoción, en la defecación, y en el tiempo que pasan cerca de las paredes o esquinas relativas al centro del campo, han sido utilizados como índices de “reactividad emocional” (Alstott & Timberlake, 2009). Las diferencias en la distancia recorrida entre ratas macho y ratas hembra concuerdan con lo reportado por Tropp y Markus (2001), quienes mencionan que los machos son menos reactivos durante una tarea de exploración debido a que son más ansiosos cuando son colocados en un ambiente nuevo, aunque los resultados de la defecación no revelan diferencias de la “emocionalidad” entre los sexos. Sin embargo como menciona Archer (1973) es difícil atribuir estos parámetros (locomoción y defecación) como respuestas de componentes “emocionales” en los animales, por lo que las subsecuentes diferencias entre los sexos pueden no originarse de diferencias en los niveles de “emocionalidad”, si no ser la consecuencia de disparidades en la manera en la cual las hembras y los machos exploran su ambiente (Tropp & Markus, 2001; Alstott & Timberlake, 2009).

Investigaciones previas han mostrado una ventaja de las ratas macho en memoria espacial, debido en parte a algunas diferencias en las estructuras neuronales, así como cambios conductuales en la memoria por efecto del estrés (Masur *et al*; 1980., Alstott &

Timberlake, 2009) o de otros factores como la edad o la cepa. Al respecto, Hyde & Jerussi (1983) reportaron que la edad a la cual se observan diferencias entre sexos en la ejecución de esta prueba es a las 8 semanas, la misma edad en la que los animales fueron sometidos al trabajo cognitivo en este estudio. Igualmente los machos se mueven más lentamente, posiblemente explorando mas a fondo. Por esta razón, los machos pueden retener mejor la información espacial acerca del ambiente que las hembras (Alstott & Timberlake, 2009). Ahora bien, ¿por qué en las otras pruebas conductuales no se observan diferencias en las variables medidas entre los sexos?

Jonasson (2005) realizó un meta-analisis, el cual mostró claramente la existencia de robustas ventajas de las ratas macho sobre las ratas hembra en la memoria de trabajo y la memoria de referencia. Sin embargo en nuestro trabajo no se observan diferencias sexuales en la ejecución de las pruebas de laberintos, esto puede deberse a lo reportado por varios estudios, los cuales mencionan que existen variables cualitativas relevantes que pueden influir en la magnitud de las diferencias sexuales en estas tareas, dichas variables son: la especie, la cepa, la edad, el estrés, el preentrenamiento, el ambiente de crianza, la complejidad del protocolo y las variaciones metodológicas (Jonasson, 2005; Coluccia & Louse, 2004).

Diferencias sexuales en la cognición han sido relacionadas a la cepa, por ejemplo diferencias en la ejecución de pruebas de aprendizaje y memoria han sido encontradas mas frecuentemente en ratas albinas que en ratas pigmentadas (Blokland *et al*; 2006); esto se debe a que las cepas de ratas albinas son mas “ansiosas” y “emocionales” que las ratas de cepas pigmentadas (Harris *et al*; 2008). Otra explicación es lo que menciona Perrot-Sinal y colaboradores (1996) que el preentrenamiento elimina las posibles ventajas de los machos en el desempeño de pruebas cognitivas; esto lo podemos relacionar con la prueba de actividad locomotora, la cual sirvió como medio para comenzar a manipular a los animales y para reducir el estrés generado por la exposición a ambientes novedosos; esto sumado al tipo de cepa que se empleo en el presente trabajo puede estar explicando el desempeño de los animales en las pruebas.

En la prueba de reconocimiento de objetos consideramos otras variables que nos pueden ayudar a comprender mejor el efecto del sexo sobre el desempeño de los animales; esta prueba se basa en la tendencia natural de los roedores para explorar los estímulos y ambientes novedosos (Carlini, 2011; Dudchenko, 2004., Ennaceur, 2010; Van Goethem *et al*; 2012., Mathiasen & DiCamillo, 2010; Torres *et al*; 2007). Por ejemplo, el tiempo que pasaron los animales explorando los objetos nuevos fue mayor que el tiempo que exploraron los objetos familiares en las fases de memoria a corto plazo y memoria a largo plazo. No obstante no se observaron diferencias entre hembras y machos, resultados que concuerdan con lo reportado por Van Goethem y colaboradores (2012). Sin embargo, el índice de discriminación, el cual es una medida de la preferencia que muestran los animales hacia un tipo de objeto (nuevo o familiar), mostró que sólo los machos presentaron diferencias significativas en la preferencia que muestran hacia los objetos entre las fases de memoria a corto y largo plazo. Esto puede indicar un mayor deterioro en la capacidad de recordar (Carlini, 2011). La preferencia por objetos nuevos depende de varios factores entre ellos el sexo. Dentro del sexo, el estrés puede estar afectando el desempeño de los animales, por ejemplo; las hembras tienden a responder más pobremente al estrés y así su rendimiento espacial puede verse sin cambios o puede ser potenciado (Harris *et al*; 2008, Tropp & Markus, 2001).

En cuanto al efecto del entrenamiento cognitivo sobre la morfología neuronal del hipocampo dorsal, los resultados muestran que la realización de estas pruebas causo un incremento en el material dendrítico, principalmente en la arborización apical de las neuronas piramidales de la región CA1; los machos presentaron un incremento de 46%, mientras que las hembras tuvieron un incremento de 29%, este gran porcentaje de incrementos puede ser debido a la realización de varias pruebas cognitivas sobre los mismos animales, como lo menciona Muhammad y colaboradores (2013), quienes realizaron dos pruebas cognitivas sobre los mismos animales y encontraron un incremento del 25 al 35%.

La separación anatómica de las dendritas de las neuronas piramidales hipocampales en

dendritas apicales y basales implica que tienen diferentes funciones. Al respecto, estudios previos en la neocorteza en desarrollo han demostrado claramente que las dendritas apicales y basales responden de manera diferenciada a las alteraciones en la actividad neuronal (Nishimura *et al*; 2011). El análisis de Sholl del árbol apical de la región CA1 muestra que las hembras experimentales (HE) incrementaron el número de intersecciones dendríticas en círculos concéntricos próximos al soma, mientras que los machos experimentales (ME) incrementaron sus intersecciones dendríticas en círculos distales al soma, estos resultados concuerdan con lo reportado por Juraska y colaboradores (1989), quienes atribuyen estas diferencias a los patrones de conectividad que reciben estas neuronas (Juraska *et al*; 1989). Las principales entradas excitatorias que reciben las neuronas CA1 llegan de la corteza entorrinal (CE) y de las neuronas CA3. Entradas directas de las neuronas piramidales de la capa III de la CE proyectan hacia las neuronas CA1 a través de la vía perforante (VP). Las entradas de la VP selectivamente inervan las dendritas apicales distales, en el estrato *lacunosum-moleculare*. Entradas adicionales desde el núcleo reuniens del tálamo y el núcleo basolateral de la amígdala también inervan a las neuronas CA1 por medio de sinapsis en las dendritas apicales distales. También entradas desde las neuronas CA3 por medio de las colaterales de Schaffer forman sinapsis en las dendritas apicales en el estrato *radiatum* (Pokorný & Yamamoto, 1981; Spruston & McBain, 2007., Watanabe *et al*; 2014).

Ahora bien, ¿a qué se debe que la arborización apical de las neuronas de la región CA1 presente mayor porcentaje de incremento dendrítico? La región principal de entrada y salida hipocampal para información espacial es el área CA1 (Gigg, 2006; Hoge & Kesner, 2007). Esta área recibe entradas en paralelo desde corteza entorrinal vía la región CA3 y directamente desde la capa III de la corteza entorrinal, formando un circuito que es altamente específico, el circuito entorrinal-CA1-subículo (Naber *et al*; 2001., Kloosterman *et al*; 2004), el cual está principalmente involucrado en la representación mental del ambiente (Gigg, 2006).

Dado que las pruebas conductuales realizadas se enfocan principalmente en la memoria espacial una conclusión lógica es que la entrada de información espacial está repercutiendo en la arborización apical de estas neuronas y puede ser importante para la

formación de la memoria. Otros estudios parecen demostrar una disociación entre el hipocampo dorsal CA3 y el hipocampo dorsal CA1 en términos del procesamiento temporal de la información visual de objetos, basados en la idea de que el hipocampo dorsal CA3 media la memoria a corto plazo y que el hipocampo dorsal CA1 media la memoria intermedia y su subsecuente consolidación, igualmente la subregión CA1 parece tener procesos celulares que responden a la memoria a largo plazo a diferencia de la subregión CA3 (Hoge & Kesner, 2007).

En cuanto a la densidad de espinas dendríticas, los resultados muestran que el entrenamiento cognitivo generó incrementos tanto de la arborización apical como de la arborización basal de las neuronas de las regiones CA1 y CA3 sin mostrar indicios de dimorfismo sexual. Las espinas dendríticas no son estructuras estáticas y pueden cambiar en respuesta a señales ambientales o a la activación de receptores mediados por neurotransmisores (Spruston & McBain, 2007). Moser y colaboradores (1994) reportaron incrementos en la densidad de espinas dendríticas de las neuronas CA1 en ratas que fueron entrenadas en tareas de habilidad espacial. González-Ramírez y colaboradores (2014) también reportaron un incremento en la densidad de espinas dendríticas de ratas jóvenes y adultas entrenadas en el laberinto acuático de Morris.

Las espinas dendríticas son especializaciones estructurales, funcionales y los principales sitios donde las neuronas reciben y procesan la información aferente excitatoria (von Bohlen und Halbach, 2009), además de que representan la base física para el aprendizaje y la memoria (González-Burgos, 2012). Un fenómeno que actualmente es el mejor candidato para explicar los mecanismos celulares y moleculares de la plasticidad sináptica es la potenciación a largo plazo (PLP) (Sweatt, 2009). La PLP desencadena vías de señalización intracelular que incluyen diferentes familias de proteínas, las cuales actúan de una manera coordinada, interactuando unas con otras, y formando complejos específicos para ejercer su efecto sobre la dinámica de actina y por lo tanto, sobre la morfología de las espinas dendríticas (Ferrari & Goda, 2009; Yuste, 2010., González-Burgos, 2012).

Pero ¿por qué los cambios dendríticos sólo son prominentes en la arborización apical de la región CA1 mientras que los cambios en las densidades de espinas dendríticas se

observan tanto en las arborizaciones apicales y basales de las regiones CA1 y CA3? Una explicación es lo que menciona Kolb y colaboradores (1998), que la arborización dendrítica y la densidad de espinas dendríticas son procesos independientes; de esta manera, puede haber incremento en la densidad de espinas dendríticas sin que exista incremento en la arborización dendrítica.

La tradición de desarrollar experimentos conductuales en ratas macho puede ser enlazada al descubrimiento temprano de cambios relacionados al ciclo estral en la actividad locomotora. Sin embargo, como mencionan Beery & Zucker (2011), las diferencias sexuales en cualquier caso, son incompletamente explicadas por acción de las hormonas sexuales, de esta manera algunas diferencias sexuales pueden ocurrir sólo en ciertos ambientes o a edades específicas.

8. Conclusiones

La estimulación cognitiva por medio de pruebas de aprendizaje y memoria favorece los cambios plásticos en el hipocampo dorsal de manera diferencial entre las arborizaciones dendríticas y la densidad de espinas dendríticas. De esta manera los incrementos en la arborización apical de la región CA1 están relacionados con diferencias entre la conectividad y las funciones que juegan las arborizaciones de estas neuronas. Los incrementos en la densidad de espinas dendríticas observados en todo el hipocampo dorsal recalcan el papel de estas estructuras en el procesamiento de la información. A pesar de existir variaciones de los cambios morfológicos entre los sexos, estos no dan indicios de un dimorfismo sexual.

9. Bibliografía

- Alstott, J., & Timberlake, W. (2009). Effects of rat sex differences and lighting on locomotor exploration of a circular open field with free-standing central corners and without peripheral walls. *Behavioural Brain Research*, 196(2), 214–9.
- Amaral, D., & Lavenex, P. (2007). Hippocampal Neuroanatomy. En P, Andersen, R, Morris, D, Amaral, T, Bliss, J, O'Keefe. (Eds.), *The hippocampus book*. Oxford University Press.
- Archer, J. (1973). Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Animal Behaviour*, 21(2), 205–235.
- Bakos, J., Hlavacova, N., Rajman, M., Ondicova, K., Koros, C., Kitraki, E., Jezova, D. (2009). Enriched environment influences hormonal status and hippocampal brain derived neurotrophic factor in a sex dependent manner. *Neuroscience*, 164(2), 788–797.
- Barnes, C. a, & Barnes, C. a. (1979). Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93(1), 74–104.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48.
- Beery, A. K., & Zucker, I. (2011). Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35(3), 565–572.
- Blokland, A., Rutten, K., & Prickaerts, J. (2006). Analysis of spatial orientation strategies of male and female Wistar rats in a Morris water escape task. *Behavioural Brain Research*, 171(2), 216–224.
- Briones, T. L., Klintsova, A. Y., & Greenough, W. T. (2004). Stability of synaptic plasticity in the adult rat visual cortex induced by complex environment exposure.

Brain Research, 1018(1), 130–135.

- Carlini, V. P. (2011). The Object Recognition Task : A New Proposal for the Memory Performance Study. En Phuong, T. (Ed.). Object Recognition. InTech.
- Carrillo, P., Giordano, M., Santamaría, A. (2009). Spatial memory: Theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. *Behavioural Brain Research*, 203:151-164.
- Coleman, P. D., & Riesen, a H. (1968). Environmental effects on cortical dendritic fields. I. Rearing in the dark. *Journal of Anatomy*, 102(Pt 3), 363–374.
- Coluccia, E., & Louse, G. (2004). Gender differences in spatial orientation: A review. *Journal of Environmental Psychology*, 24(3), 329–340.
- Crair, M.C., Shah, R.D. (2009). Long-Term Potentiation and Long-Term Depression in experience-dependent plasticity. *Elsevier*.
- Crawley, M. J. (2007). The R Book. Primera Edición. John Wiley & Sons, Ltd.
- Diamond, M. C., Lindner, B., & Raymond, A. (1967). Extensive cortical depth measurements and neuron size increases in the cortex of environmentally enriched rats. *The Journal of Comparative Neurology*, 131(3), 357–364.
- Diamond, M. C., Dowling, G. a, & Johnson, R. E. (1981). Morphologic cerebral cortical asymmetry in male and female rats. *Experimental Neurology*, 71(2), 261–268.
- Diamond, M. C. (2001). Response of the Brain to Enrichment. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 73 (2).
- Dudchenko, P. A. (2004). An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28(7), 699–709.
- Duvernoy, H., Cattin, F., Risold, P.Y. (2013). The human Hippocampus, functional anatomy, vascularization and serial sections with MRI. Fourth edition, Springer. Cap 3.

Pag 15-32.

- Ennaceur, A. (2010). One-trial object recognition in rats and mice: Methodological and theoretical issues. *Behavioural Brain Research*, 215(2), 244–254.
- “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio”. Norma Oficial Mexicana NOM-062ZOO-1999. Diario Oficial de la Federación, 22 de agosto de 2001.
- Fanselow, M.S., Dong, H.W. (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures?. *Neuron*, 14; 65(1): 7.
- Ferrari, A., & Goda, Y. (2009). Cytoskeleton in Plasticity. Elsevier. University College London.
- Fregozo, C.S., Vega, M.I. (2012). Participación de las proteínas de unión a la actina y vías de señalización asociadas a la formación y mantenimiento de las espinas dendríticas. *Neurología*, 27 (7): 421-431.
- García, J.D. (2011). Estandarización de un modelo de aprendizaje en ratones sometidos a diferentes condiciones experimentales (tesis de licenciatura). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Gibb, R., & Kolb, B. (1998). A method for vibratome sectioning of Golgi–Cox next term stained whole rat brain. *Journal of Neuroscience Methods*, 79, 1–4.
- Gigg, J. (2006). Constraints on hippocampal processing imposed by the connectivity between CA1 , subiculum and subicular targets. *Behavioural Brain Research*, 174, 265–271.
- González-Burgos, I. (2012). From synaptic transmission to cognition: An intermediary role for dendritic spines. *Brain and Cognition*, 80(1), 177–183.
- González-Ramírez, M. M., Velázquez-Zamora, D. a., Olvera-Cortés, M. E., & González-Burgos, I. (2014). Changes in the plastic properties of hippocampal dendritic

spines underlie the attenuation of place learning in healthy aged rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 109, 94–103.

- Greenough, W. T., Black, J. E., & Wallace, C. S. (1987). Experience and brain development. *Child Development*, 58(3), 539–559.
- Harris, A. P., D’earth, R. B., & Healy, S. D. (2008). Sex differences, or not, in spatial cognition in albino rats: acute stress is the key. *Animal Behaviour*, 76(5), 1579–1589.
- Hoge, J., & Kesner, R. P. (2007). Role of CA3 and CA1 subregions of the dorsal hippocampus on temporal processing of objects. *Neurobiology of Learning and Memory*, 88, 225–231.
- Holtmaat, A., & Svoboda, K. (2009). Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain. *Nature Reviews. Neuroscience*, 10(9), 647–658.
- Hyde, J. F., & Jerussi, T. P. (1983). Sexual dimorphism in rats with respect to locomotor activity and circling behavior. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 18(5), 725–9.
- Issacson, R.L. (1982). Hippocampus. In the limbic system. Ed. Plenum press. Second Edition.
- Izquierdo, L.A., Barros D.M., Vianna M.R., Coitinho A., deDavid, T., Choi, H., Moletta, B., Medina, J.H., Izquierdo, I. (2002). Molecular pharmacological dissection of short- and long-term memory. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 22(3): 269-287.
- Jonasson, Z. (2005). Meta-analysis of sex differences in rodent models of learning and memory: A review of behavioral and biological data. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28(8), 811–825.
- Juraska, J. M. (1984). Sex differences in developmental plasticity in the visual cortex and hippocampal dentate gyrus. *Progress in brain research*, 61:205-14.
- Juraska, J. M., Fitch, J. M., & Washburne, D. L. (1989). The dendritic morphology of pyramidal neurons in the rat hippocampal CA3 area. II. Effects of gender and the

environment. *Brain Research*, 479(1), 115–119.

- Juraska, J. M. (1991). Sex differences in “cognitive” regions of the rat brain. *Psychoneuroendocrinology*, 16(1-3), 105–109.
- Juraska, J. M., Sisk, C. L., & DonCarlos, L. L. (2013). Sexual differentiation of the adolescent rodent brain: Hormonal influences and developmental mechanisms. *Hormones and Behavior*, 64(2), 203–210.
- Kandel, R. E., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum, S. A., Hudspeth, A. J. (2012). Principles of neural science. Fifth Edition. McGraw-Hill Companies.
- Kesner, R. P., Hunsaker, M. R., & Ziegler, W. (2011). The role of the dorsal and ventral hippocampus in olfactory working memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 96(2), 361–366.
- Kim, J.J., Diamond, D.M. (2002). The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memory. *Nature*, 3:453-462.
- Kloosterman, F., Haeflén, T. Van, & Lopes, F. H. (2004). Two Reentrant Pathways in the Hippocampal-Entorhinal System. *Hippocampus*, 1039, 1026–1039.
- Kolb, B., Forgie, M., Gibb, R., Gorny, G., Rowntree, S. (1998). Age, Experience and the Changing Brain. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 22:143-159.
- Kolb, B., Gibb, R., Gorny, G. (2003). Experience-dependent changes in dendritic arbor and spine density in neocortex vary qualitatively with age and sex. *Neurobiology of Learning and Memory*, 79:1-10.
- Kolb, B., Gorny, G., Söderpalm, A., Robinson, T.E. (2003). Environmental complexity has different effects on the structure of neurons in the prefrontal cortex versus the parietal cortex or nucleus accumbens. *Synapse*, 48:149-153.
- Kolb, B., Cioe, J., Comeau, W. (2008). Contrasting effects of motor and visual spatial learning tasks on dendritic arborization and spine density in rats. *Neurobiology of*

Learning and Memory, 90:295-300.

- Kolb, B., Mychasiuk, R., Muhammad, A., & Gibb, R. (2013). *Brain plasticity in the developing brain. Progress in Brain Research* (1st ed., Vol. 207). Elsevier B.V.
- Krebs, C.J. (2013). *Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*. Sixth Edition. Harper International Edition.
- Leuner, B., & Gould, E. (2010). Structural plasticity and hippocampal function. *Annual Review of Psychology*, 61, 111–40.
- Lynch, M.A. (2004). Long-Term potentiation and memory. *Physiological Reviews of Neuroscience*, 26:81-104.
- Masur, J., Schutz, M. T., Boerngen, R. (1980). Gender differences in open-field behavior as a function of age. *Developmental Psychobiology*, 13(2), 107–10.
- Mathiasen, J. R., & Dicamillo, A. (2010). Novel object recognition in the rat: A facile assay for cognitive function. *Current Protocols in Pharmacology*, (SUPPL. 49), 1–15.
- McCarthy, M. M. (2015). Brain Sex Differences. *Brain Mapping*. Elsevier Inc.
- Morris, R. G. M. (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*, 12(2), 239–260.
- Moser, M. B., Trommald, M., & Andersen, P. (1994). An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggests the formation of new synapses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(26), 12673–12675.
- Muhammad, A., Mychasiuk, R., Hosain, S., Nakahashi, A., Carroll, C., Gibb, R., Kolb, B. (2013). Training on motor and visual spatial learning tasks in early adulthood produces large changes in dendritic organization of prefrontal cortex and nucleus accumbens in rats given nicotine prenatally. *Neuroscience*, 252:178-189.

- Naber, P. A., Lopes, F. H., & Witter, M. P. (2001). Reciprocal Connections Between the Entorhinal Cortex and Hippocampal Fields CA1 and the Subiculum Are in Register With the Projections From CA1 to the Subiculum. *Hippocampus*, 11:99–104.
- Nishimura, M., Gu, X., & Swann, J. W. (2011). Seizures in early life suppress hippocampal dendrite growth while impairing spatial learning. *Neurobiology of Disease*, 44(2), 205–14.
- Nithianantharajah, J., & Hannan A. (2006). Enriched environments, experience dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nature Reviews*, 7:697-709.
- Ordoñez Piña Imelda. (2013). Estudio de la Influencia del objeto en el paradigma de objeto novedoso en rata wistar (tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Pang, T. Y. C., & Hannan, A. J. (2013). Enhancement of cognitive function in models of brain disease through environmental enrichment and physical activity. *Neuropharmacology*, 64, 515–528.
- Paxinos, G. Watson, C. (1998). The Rat Brain In Stereotaxic Coordinates. Cuarta Edición. Elsevier.
- Peña, Y., Prunell, M., Rotllant, D., Armario, A., Escorihuela, R. M. (2009). Enduring effects of environmental enrichment from weaning to adulthood on pituitary-adrenal function, pre-pulse inhibition and learning in male and female rats. *Elsevier*. 1390-1404.
- Perrot-Sinal, T. S., Kostenuik, M. a, Ossenkopp, K. P., & Kavaliers, M. (1996). Sex differences in performance in the Morris water maze and the effects of initial nonstationary hidden platform training. *Behavioral Neuroscience*, 110(6), 1309–1320.
- Pokorný, J., & Yamamoto, T. (1981). Postnatal ontogenesis of hippocampal CA1 area in rats. I. Development of dendritic arborisation in pyramidal neurons. *Brain Research Bulletin*. 113-120.

- Potvin, O., Doré, F. Y., & Goulet, S. (2007). Contributions of the dorsal hippocampus and the dorsal subiculum to processing of idiothetic information and spatial memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 87(4), 669–678.
- Prendergast, B. J., Onishi, K. G., & Zucker, I. (2014). Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 40, 1–5.
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., Lamantia, A. S., Mcnamara, J. O., Williams, S. M. (2008). Neurociencia. Tercera edición. Editorial Médica Panamericana.
- R Development Core Team. 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Online at <http://www.R-project.org/>
- Rabipour, S., & Raz, A. (2012). Training the brain: Fact and fad in cognitive and behavioral remediation. *Brain and Cognition*, 79(2), 159–179.
- Rosenzweig, M. R., & Bennett, E. L. (1996). Psychobiology of plasticity: Effects of training and experience on brain and behavior. *Behavioural Brain Research*, 78(1), 57–65.
- Sholl, D. a. (1953). Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat. *Journal of Anatomy*, 87(Pt 4), 387–406.1.
- Silva, A.B., Aguilar, Y., Reyes, D.O., Flores, G. (2013). Dexamethasone induces different morphological changes in the dorsal and ventral hippocampus of rats. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 47:71-78.
- Spruston, N., & McBain, C. (2007). Structural and Functional Properties of Hippocampal Neurons. En P, Andersen, R, Morris, D, Amaral, T, Bliss, J, O'Keefe. (Eds.), *The hippocampus book*. Oxford University Press.

- Squire, L., Berg, D., Bloom, F., Lac, S.D., Ghosh, A., Spitzer, N. (2008). *Fundamental Neuroscience*. Tercera Edición. Elsevier.
- Sweatt, J. D. (2009). *Long-Term Potentiation (LTP)*. Elsevier. University of Alabama at Birmingham.
- Therneau T (2015). *A Package for Survival Analysis in S*. version 2.38, <http://CRAN.R-project.org/package=survival>.
- Torres, A., Vargas, V., Múnera, A., Lamprea, M. (2007). Evaluación de preferencia por la forma o la textura de dos tipos de objetos en ratas Wistar. *Revista Colombiana de Psicología*, 49–56.
- Tropp, J., Markus, E. J. (2001). Sex differences in the dynamics of cue utilization and exploratory behavior. *Behavioural Brain Research*, 119(2), 143–54.
- Valle, F. P. (2015). Effects of strain, sex, and illumination on open-field behavior of rats. *The American Journal of Psychology*. University of British Columbia, 83(1), 103–111.
- Van Goethem, N. P., Rutten, K., van der Staay, F. J., Jans, L. A. W., Akkerman, S., Steinbusch, H. W. M., Prickaerts, J. (2012). Object recognition testing: Rodent species, strains, housing conditions, and estrous cycle. *Behavioural Brain Research*, 232(2), 323–334.
- Von Bohlen und Halbach, O. (2009). Structure and function of dendritic spines within the hippocampus. *Annals of Anatomy*, 191(6), 518–531.
- Watanabe, H., Tsubokawa, H., Tsukada, M., Aihara, T. (2014). Frequency-dependent signal processing in apical dendrites of hippocampal CA1 pyramidal cells. *neuroscience*, 278, 194–210.
- Yuste, R. (2010). *Dendritic Spines*. The MIT Press.



Diferencias morfológicas en neuronas piramidales del hipocampo dorsal de ratas juveniles sometidas a trabajo cognitivo

Villanueva Espino Luis Alberto, Silva Gómez Adriana Berenice

Escuela de Biología, BUAP

La experiencia obtenida en un entrenamiento conductual altera la morfología neuronal de muchas especies y de algunas regiones cerebrales; esta plasticidad es un proceso en marcha que puede ser observado y medido en múltiples niveles. Hay evidencias de que ratas juveniles y adultas muestran un incremento en la longitud dendrítica en respuesta a alojamientos complejos, y cambios sinápticos y morfológicos como consecuencia del aprendizaje. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto de experiencias cognitivas sobre la morfología neuronal del hipocampo en ratas hembra y ratas macho juveniles, a través de varias pruebas conductuales y establecer un posible dimorfismo sexual como resultado del efecto de aprendizaje y memoria. Se emplearon 24 ratas Long Evans, 12 hembras y 12 machos divididos en 4 lotes de 6 ratas cada uno. A las ratas se les sometió a tareas cognitivas a través de la prueba de actividad locomotora en campo abierto, el laberinto acuático de Morris, el laberinto circular de Barnes y la prueba de reconocimiento de objetos. Posteriormente se realizó el análisis morfológico de neuronas CA1 y CA3 de hipocampo dorsal mediante la técnica de Golgi-Cox. Se observaron diferencias respecto del sexo en la prueba de actividad locomotora en campo abierto ($p=0.028$) y en el laberinto acuático de Morris ($p=0.014$). Se obtuvo un incremento en la arborización dendrítica apical ($p=0.0001$) y basal ($p=0.037$) de las neuronas CA1 de las ratas sometidas a las pruebas, también se observó un incremento en la densidad de espinas dendríticas apical y basal de las neuronas CA1 y CA3 de las ratas sometidas a las tareas cognitivas. La experiencia en pruebas cognitivas provocó un incremento en la arborización dendrítica de neuronas CA1 del hipocampo y un incremento en la densidad de espinas de las neuronas CA1 y CA3, sin diferencias relacionadas con el sexo.