

INFLUENCIA DE LA ILUMINACIÓN Y EL HANDLING EN LA RESPUESTA DE ANSIDAD EN EL MODELO LIGHT-DARK BOX EN RATAS MACHO

Bai, Florencia¹; Perini, Valentina¹; Scorza, Cecilia¹; Urbanavicius, Jessika¹

¹ Departamento de Neurofarmacología Experimental, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay.

Introducción

El light-dark box (L-D box) es un modelo preclínico utilizado para el estudio de la neurobiología subyacente a los trastornos de ansiedad y la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas. Evalúa una respuesta conductual no condicionada basada en el conflicto natural de los roedores entre la exploración de espacios novedosos y la evitación de ambientes potencialmente peligrosos o aversivos (1). Consiste en una caja con dos compartimentos, uno iluminado (light; L) y abierto que constituye el estímulo aversivo, y otro oscuro (dark; D) y cerrado, seguro para el animal (2). En este modelo se pueden cuantificar diversos parámetros para describir la conducta de ansiedad. Los más frecuentemente utilizados son el tiempo de permanencia en el compartimento iluminado y el número de transiciones entre compartimentos. Sin embargo, pueden encontrarse reportados otros tales como las latencias L-D y D-L, el número de rearings (exploración vertical) y el número de evaluaciones de riesgo o risk assessment. Diversas variables experimentales pueden influir en el desempeño de los animales en el modelo (3; 4). Entre ellas, la intensidad de iluminación en el light es un factor determinante (3). Asimismo, la manipulación previa de los animales o handling puede impactar sobre la respuesta de ansiedad en el L-D box. El handling es una estrategia ampliamente utilizada que busca familiarizar los animales al experimentador y a los procedimientos que se llevarán a cabo el día del experimento (ej. inyección intraperitoneal) (5). En este contexto, el diseño experimental y el control de éstas variables se vuelve clave para la optimización del modelo en el laboratorio. En este trabajo hipotetizamos que un aumento en la intensidad de iluminación promueve una respuesta ansiogénica, mientras que el handling reduce la ansiedad.

Objetivo: Investigar la influencia de la luz y del handling sobre la respuesta de ansiedad de ratas macho en el modelo L-D box

Resultados

1. EL AUMENTO EN LA INTENSIDAD DE ILUMINACIÓN INDUJO UN INCREMENTO DE LA ANSIDAD EXPERIMENTAL EN EL L-D BOX

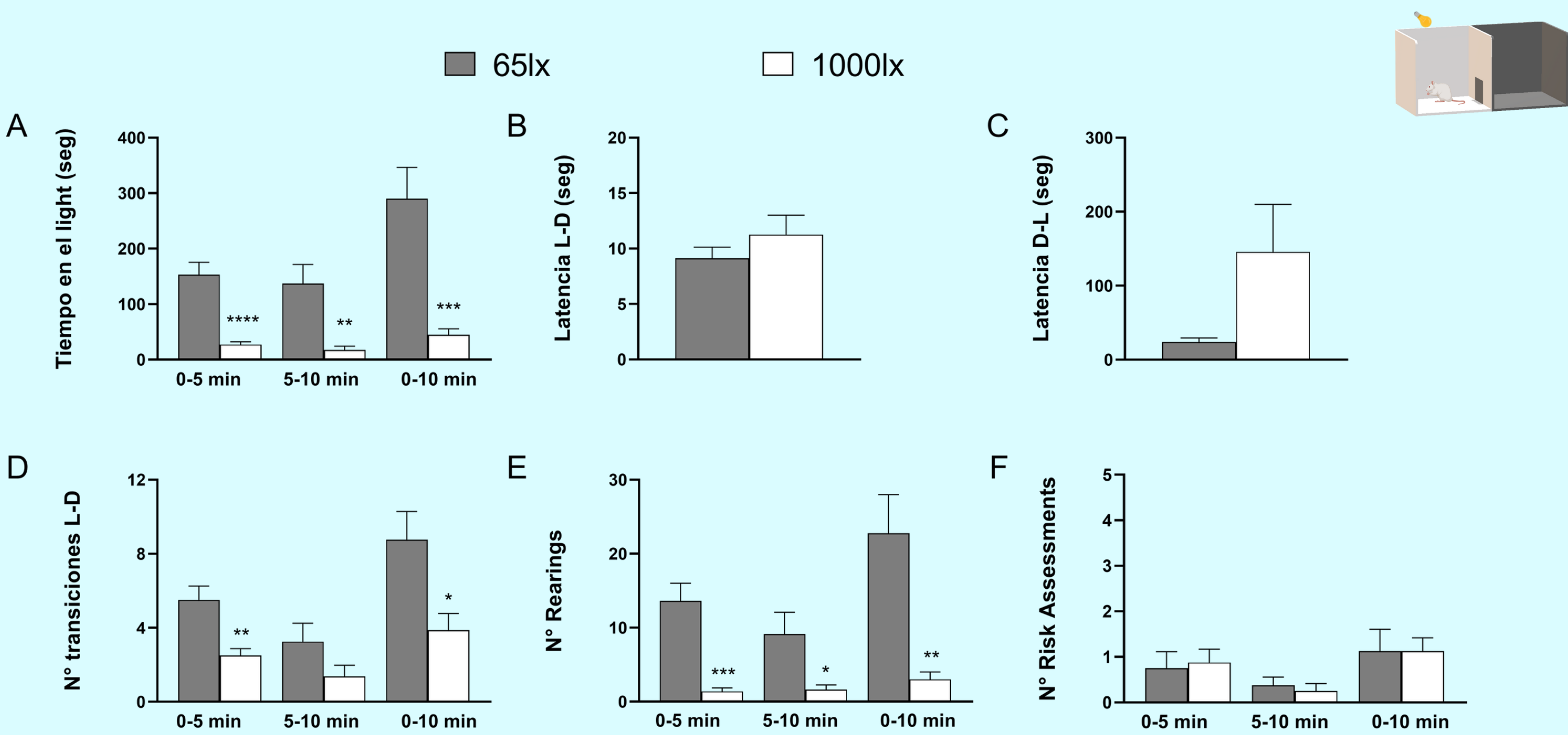


Figura 1. Efecto de la iluminación sobre el tiempo de permanencia en el compartimento iluminado (A), la latencia L-D (B), la latencia D-L (C), el n° de transiciones (D), el n° de rearings (E) y el n° de risk assessment (F) evaluados en el L-D box. Media $\pm$ EEM. Test t-Student. *p< 0.05; **p< 0.01; ***p< 0.001; ****p< 0.0001. n= 9-10

2. EL HANDLING NO REDUJO LA ANSIDAD EXPERIMENTAL DE LOS ANIMALES

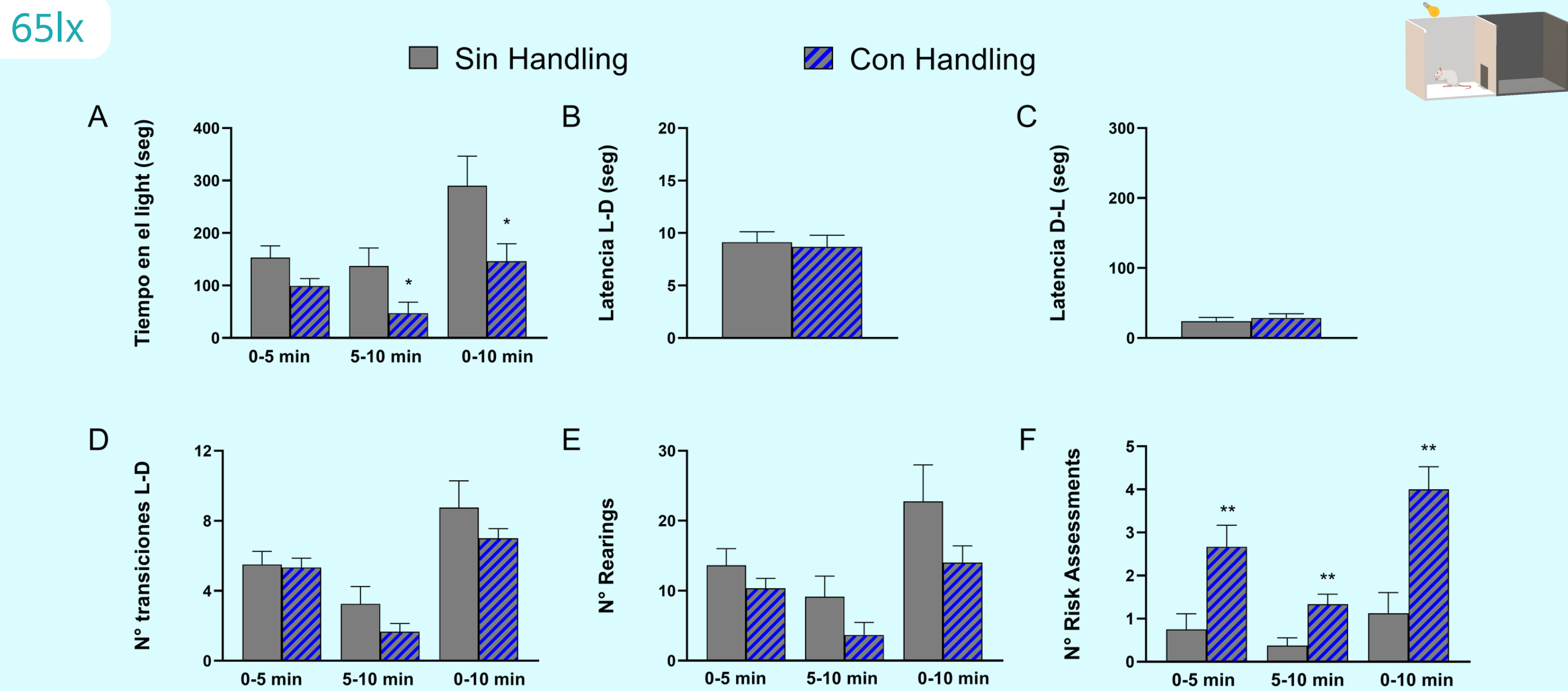


Figura 2. Efecto del handling sobre el tiempo de permanencia en el compartimento iluminado (A), la latencia L-D (B), la latencia D-L (C), el n° de transiciones (D), el n° de rearings (E) y el n° de risk assessment (F) evaluados en el L-D box. Media $\pm$ EEM. Test t-Student. *p< 0.05; **p< 0.01. n= 8-9

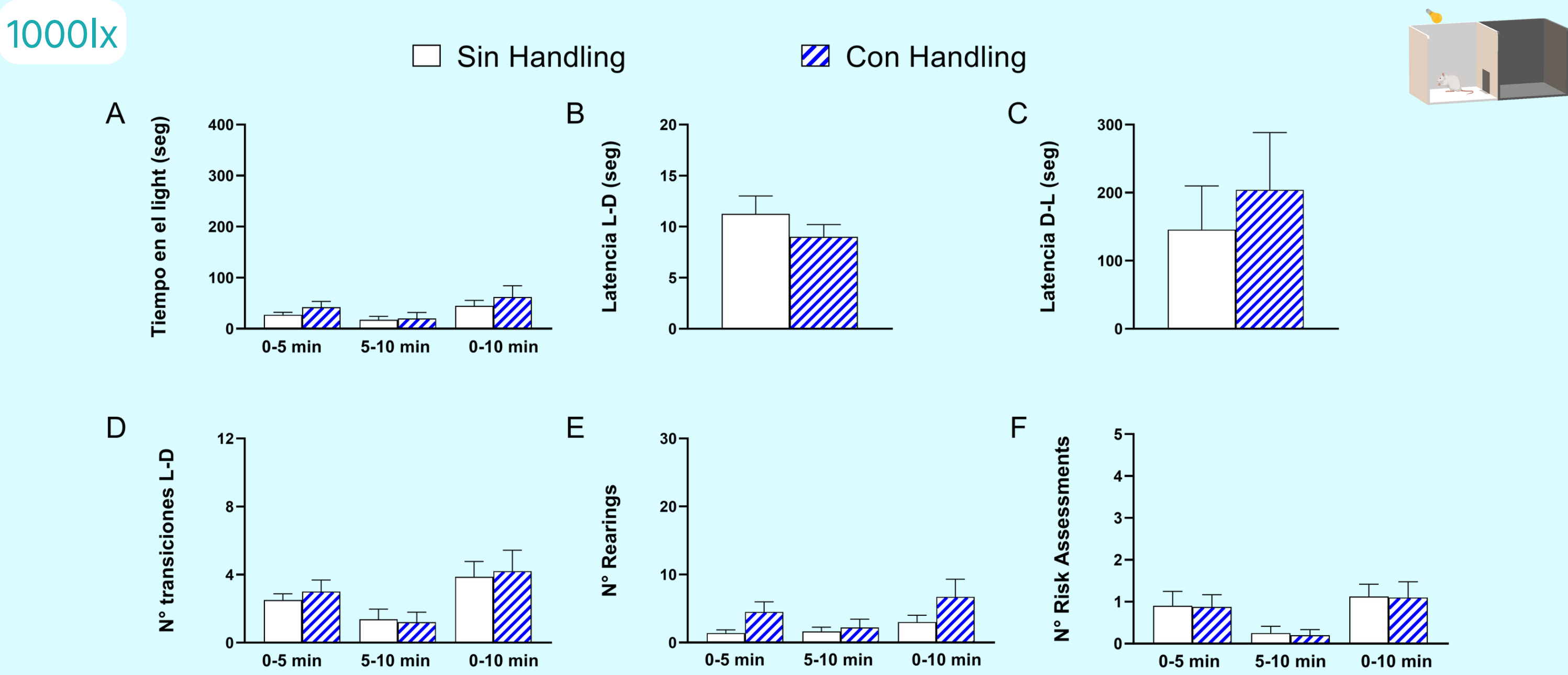
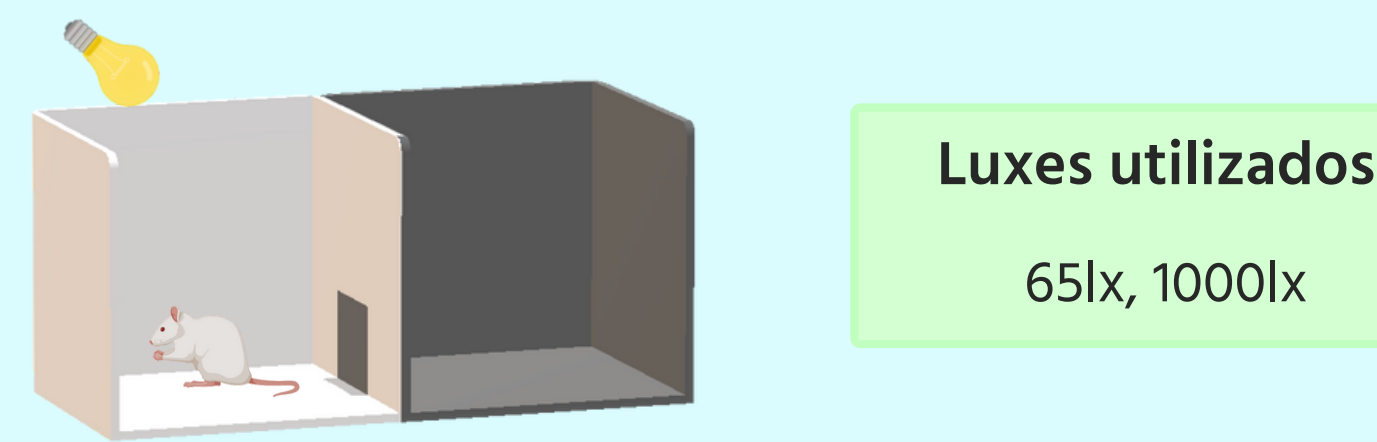


Figura 3. Efecto del handling sobre el tiempo de permanencia en el compartimento iluminado (A), la latencia L-D (B), la latencia D-L (C), el n° de transiciones (D), el n° de rearings (E) y el n° de risk assessment (F) evaluados en el L-D box. Media $\pm$ EEM. Test t-Student. n= 8-10

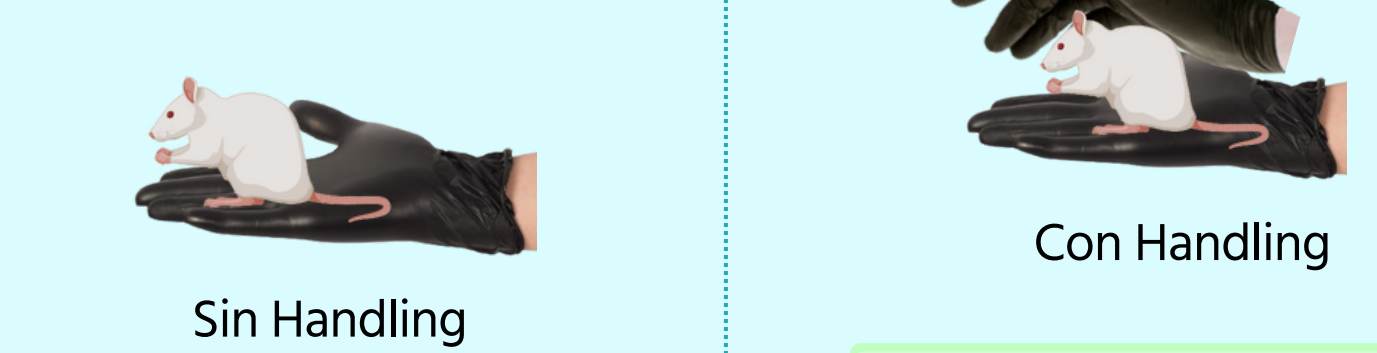
Diseño experimental

1. LUXES



Luxes utilizados
65lx, 1000lx

2. HANDLING



Sin Handling

Con Handling

Handling
Sesiones de 5 min 24, 48 y 72 hrs previas al test

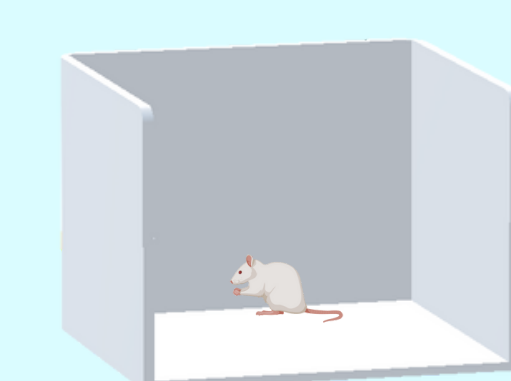
Animales
Ratas Macho Wistar
(2 meses) - Bioterio IIBCE
Procedimientos experimentales aprobados por CEUA-IIBCE (N° 005/05/2023)

Parámetros CA
Distancia recorrida (cm)
Tiempo en el centro (seg)

Parámetros L-D box
Tiempo en compartimento iluminado (seg)
Latencia L-D (seg)
Latencia D-L (seg)
N° transiciones
N° Rearings
N° Risk Assessment

3. ACTIVIDAD LOCOMOTORA

Análisis con Ethovision XT17.0



CA
Para descartar afectaciones locomotoras, los animales fueron previamente expuestos al CA durante 10 min

3. EL HANDLING NO GENERÓ CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA

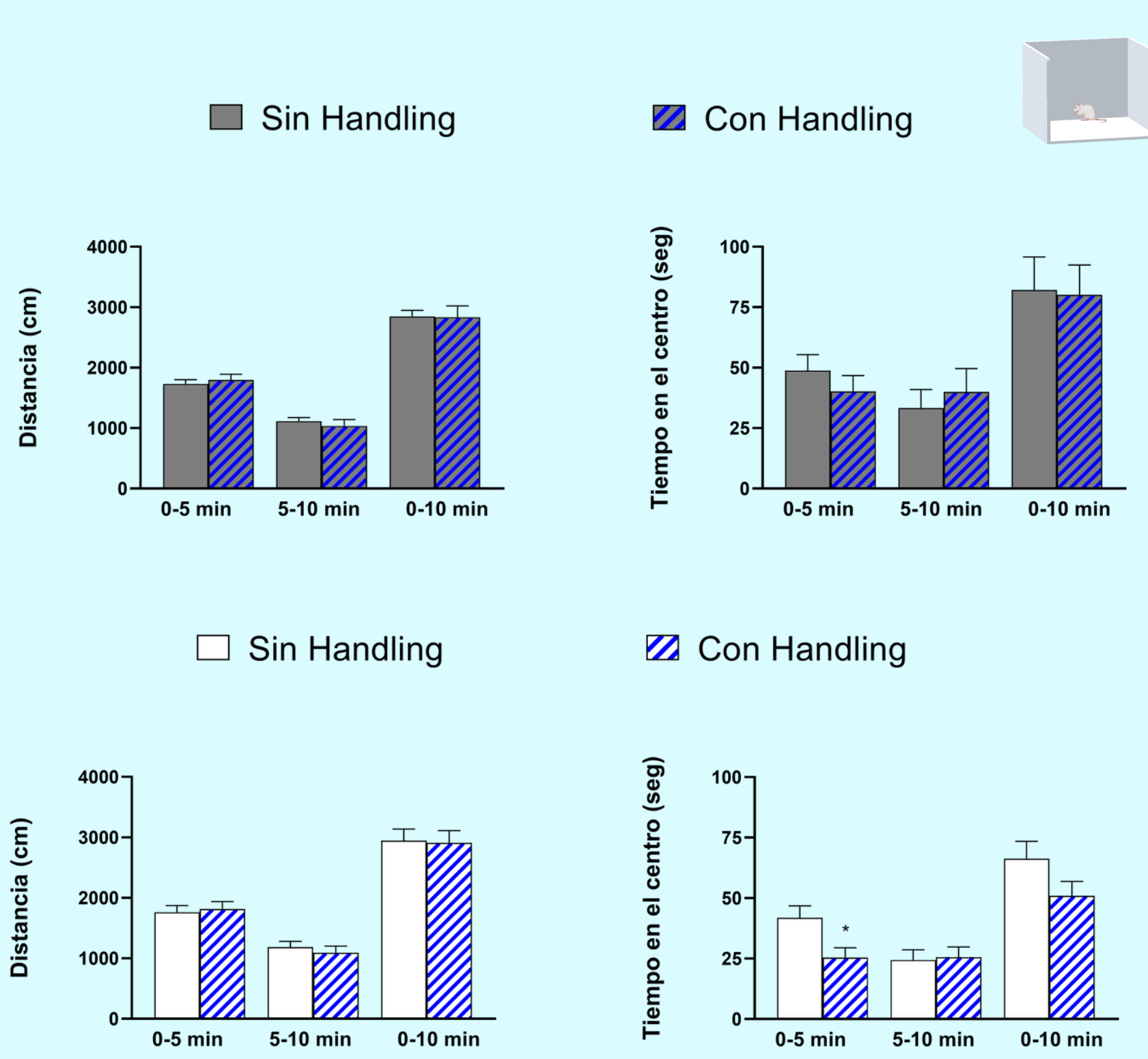


Figura 4. Efecto del handling sobre la actividad locomotora evaluada en la CA en animales que posteriormente fueron expuestos a diferentes condiciones de iluminación en el L-D box. Media $\pm$ EEM. Test t-Student. n= 8-10

Conclusiones

- La intensidad de iluminación impactó sobre la conducta natural de los animales, aumentando la ansiedad.
- El efecto del handling sobre la ansiedad experimental es dependiente de la condición de iluminación.
- La cuantificación de varios parámetros contribuye a una mejor caracterización de la respuesta en el L-D box.
- Una condición de iluminación de 65lx sin handling permitiría detectar efectos tanto ansiogénicos como ansiolíticos.

Perspectivas

- Determinar la sensibilidad del modelo al efecto ansiogénico del estrés y/o la Hormona Concentradora de Melanina
- Evaluar si otros protocolos de handling reducen la ansiedad de los animales en el L-D box.

Referencias:

- Desingu y cols., Int J Basic & Clin Pharmacol, 12(1), 134, 2023;
- Crawley and Goodwin, Pharmacol, biochem, and behav, 13(2), 167-170, 1980;
- Campos-Cardoso y cols., J Neuroscience Meth, 384, 2023;
- Bourin, M., & Hascoët, M., European journal of pharmacology, 463(1-3), 55-65, 2003;
- Gouveia, K., & Hurst, J. L., Scientific reports, 9(1), 20305, 2019;

Agradecimientos:

