

**Efecto de diferentes niveles de luz en las cajas vivero sobre el comportamiento en el
Laberinto en Cruz Elevado de ratas Wistar tratadas con Midazolam**

Diana Pilar Martínez Rangel

Trabajo de Tesis para optar al título de Bióloga

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Biología

Bucaramanga

2009

**Efecto de diferentes niveles de luz en las cajas vivero sobre el comportamiento en el
Laberinto en Cruz Elevado de ratas Wistar tratadas con Midazolam**

Diana Pilar Martínez Rangel

Para optar al Título de Bióloga

Director

Carlos Arturo Conde Cotes MD., PhD

Laboratorio de Neurociencias y comportamiento UIS-UPB
Departamento de Ciencias Básicas

Codirector

María Carolina Velásquez Martínez, Ft. MSc.

Laboratorio de Neurociencias y Comportamiento UIS-UPB
Departamento de Ciencias Básicas

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Biología

Bucaramanga

2009

Tabla de Contenido

Introducción	10
Materiales y Métodos	12
Procedimiento	13
Resultados	13
Discusión y Conclusiones	15
Referencias	18

Lista Figuras

Figura 1. Tiempo en los Brazos Abiertos en la sesión 1	20
Figura 2. Porcentaje de entradas en los Brazos Abiertos en la sesión 1.	21
Figura 3. Actividad Locomotora sesión 1.	22
Figura 4. Tiempo en los brazos abiertos (TBA), cerrados (TBC) y en el cuadro central del laberinto en cruz elevado en los animales tratados con solución salina en la sesión 1.	23

Lista Tablas

Tabla 1. Zonas del Laberinto en Cruz Elevado.	24
Tabla 2. Comparación entre Sesiones.	25

Resumen español

Efecto de diferentes niveles de luz en las cajas vivero sobre el comportamiento en el Laberinto en Cruz Elevado de ratas Wistar tratadas con Midazolam *

**** Diana Pilar Martínez, Carlos Arturo Conde, María Carolina Velásquez.**

Palabras clave: Laberinto en Cruz Elevado, iluminación ambiental, bioterio, nivel de iluminación.

De las publicaciones que involucran el Laberinto en Cruz Elevado (LCE) son pocas las orientadas a realizar un acercamiento hacia las condiciones medio-ambientales de los espacios donde son mantenidos los animales, como son los bioterios. Para evaluar el efecto de diferentes niveles de iluminación dentro del bioterio sobre el comportamiento en el LCE, se establecieron 3 niveles de iluminación (superior, medio e inferior) donde fueron ubicadas las cajas vivero. Se evaluaron los efectos comportamentales dentro del LCE en ratas Wistar hembras provenientes del bioterio de la Universidad Industrial de Santander. Se realizaron dos sesiones, la primera buscaba valorar el efecto de diferentes intensidades de luz sobre la línea base de comportamiento de ratas control, además de evaluar un posible cambio en la respuesta ansiolítica por la aplicación de una benzodiazepina (Midazolam, 0.5 mg/Kg). En la segunda sesión se buscaba evaluar los efectos comportamentales dentro del LCE dado por los diferentes niveles de luz en las cajas vivero sobre el fenómeno de "One-Trial Tolerance". Los resultados han evidenciado diferencias en la respuesta comportamental de las ratas que fueron inyectadas con la benzodiazepina, atribuibles a las tres intensidades de luz y manifestado por diferencias en la exploración y tiempos de permanencia en los brazos abiertos.

***Proyecto de Grado: Efecto de diferentes niveles de luz en las cajas vivero sobre el comportamiento en el Laberinto en Cruz Elevado de ratas Wistar tratadas con Midazolam.**

****Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Director: Carlos Arturo Conde Cotes.
Codirector: María Carolina Velásquez Martínez.**

Abstract

Role of Vivarium Illumination On Cage In Wistar Rat Behavior In The Elevate Pluz Maze

Diana Pilar Martínez, Carlos Arturo Conde, María Carolina Velásquez.

Keywords: Elevated Plus Maze, Vivarium illumination, level of illumination.

From publications to involve the Elevated Plus Maze (EPM) is little information about environments where rats are kept before being tested, like vivarium. In order to investigate the role of different illumination levels on vivarium (upper, middle and lower) were the cages was placed, to assess the behavioral effect in the EPM in two trials. First one to assess base line of behavior of control rats, and the effect on benzodiazepine performance, Midazolam (0.5 mg/Kg), second trial assess one trial tolerance to benzodiazepine. Results showed that vivarium illumination generate different response in rats with benzodiazepine in relation with illumination levels, like the lower level of illumination that is recommended to prove ansiolitics drugs, to advice this variable as an important in the following research.

***Proyecto de Grado: Role of Vivarium Illumination On Cage In Wistar Rat Behavior In The Elevate Pluz Maze.**

****Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Director: Carlos Arturo Conde Cotes.
Codirector: María Carolina Velásquez Martínez.**

INTRODUCCION

Los modelos animales han llegado a convertirse en un complemento de las descripciones biomédicas y han permitido además, una vía de aproximación al conocimiento subyacente de múltiples enfermedades. Su utilidad está dada por la similitud que presentan con la condición que se está modelando, pues se espera que la respuesta del animal sea comparable con la observada en humanos, comportamental y farmacológicamente¹

La ansiedad aunque es un fenómeno emocional común, es también uno de los desórdenes psiquiátricos que más prevalencia tiene, esto ha llevado a generar en las últimas décadas modelos que facilitan el *screening* de fármacos y la exploración de los posibles substratos neurobiológicos involucrados, algunos de ellos basados en miedo condicionado y otros basados en la aversión de los animales a ambientes nuevos². Dentro de este último grupo se encuentra el Laberinto en cruz Elevado (LCE), modelo utilizado para inducir manifestaciones razonablemente homologables. En este modelo se evalúa el comportamiento espontáneo, no involucra entrenamiento ni el uso de estímulos nocivos y está basado en el repertorio comportamental de los roedores, al ser enfrentados a situaciones que generan el conflicto de aproximación / evitación a situaciones potencialmente peligrosas³

El laberinto en cruz elevado consiste en una simple configuración de 4 brazos, dos de ellos con paredes laterales o brazos cerrados (BC) y dos brazos abiertos (BA), todo esto elevado 50 cm sobre el suelo. Las ratas tienden a evitar los BA, esto evidenciado por la frecuencia de entradas y tiempo de permanencia en cada tipo de brazo; se ha demostrado que este comportamiento es reducido por fármacos ansiolíticos como las benzodiazepinas, cuando estas son inyectadas en la primera experiencia en el laberinto, ya que una sola experiencia previa reduce o suprime su efecto, este fenómeno conocido como *One Trial Tolerance*, se ha propuesto, depende del aprendizaje que se realice en la primera exposición⁴.

Debido al amplio uso del LCE como modelo de ansiedad, se ha intentado dilucidar la fuente precisa de aversión generada por las zonas abiertas del laberinto, en esta búsqueda se han establecido diferencias en la respuesta comportamental inherentes al organismo

como el género^{5,6}, la edad^{6,7} y la cepa⁸; de manera similar se han encontrado diferencias atribuibles a cambios en el procedimiento experimental como la re exposición al modelo, la manipulación a la que son sometidos y la hora del día en que el animal es expuesto a la prueba⁹. Variaciones en las características del laberinto, como el cambio en la transparencia/opacidad de las paredes¹⁰ y diferentes configuraciones de los brazos (4 abiertos o 4 cerrados)¹¹ han generado respuestas diferenciales en los animales. Se ha evidenciado que niveles de baja iluminación ambiental durante la prueba, alteran la exploración y la aversión por los BA¹². Pero son las condiciones del medio donde son mantenidos los animales antes de ser expuestos al modelo, lo que ha generado esta investigación. Se ha reportado anteriormente que el tipo de alojamiento al que es expuesto el animal ya sea individual o en hacinamiento¹³, la forma como las ratas son transportadas al sitio de prueba¹⁴ y el horario de alimentación¹⁵, afectan la actividad exploratoria de los animales durante su exposición al modelo.

Es poco lo que se ha explorado acerca de la influencia de las condiciones de iluminación ambiental en lugares como bioterios o salas experimentales, de hecho es poco frecuente que sea reportado el nivel de iluminación a los que son expuestos durante su mantenimiento. Solo hasta el 2005 Martínez¹⁶ y colaboradores evaluaron el papel de la iluminación en el bioterio, al exponer animales a 96 horas continuas de iluminación versus un ciclo claro oscuro de 12 horas, no obstante, en este caso tampoco se reporta el nivel de luz (lux) y el experimento implicó una interferencia sobre el ciclo circadiano. Dado la amplia evidencia sobre la influencia que ejerce la iluminación durante la exposición al LCE sobre la respuesta de la rata y aquella que apunta a establecer la vía visual como principal modalidad sensorial en el reconocimiento de las zonas aversivas del laberinto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de mantener los animales bajo tres intensidades diferentes de luz (dadas por la ubicación de las cajas vivero), sobre la respuesta comportamental de los animales al ser expuestos al Laberinto en Cruz Elevado en dos sesiones experimentales con 36 horas de intervalo.

MATERIALES Y METODOS

ANIMALES

Fueron evaluadas 75 ratas Wistar hembras con peso entre 190 y 250 gramos, provenientes del bioterio de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander, alojadas en grupos de 6 animales por caja ¹³, (50x30x15cm), con comida y agua *ad libitum*, en un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas, a temperatura promedio de 23±1°C, y humedad relativa de 66±5%. El periodo de habituación a la sala experimental fue de 8 días antes de iniciar la exposición al LCE, fueron distribuidas conforme los niveles de lux proveniente de un único foco central que llegan a cada altura del estante donde son ubicadas las cajas vivero. Un grupo Superior (S) sometido a 128 lux, un grupo Medio (M) sometido a 117 lux y un grupo Inferior (I) sometido a 103 lux. Todos los animales fueron manipulados por 1 minuto durante 3 días antes de ser expuestos al laberinto. La exposición al LCE se realizó entre las 14:00 y las 18:00 horas. Todos los procedimientos realizados a los animales dentro de este proyecto se acogieron a la ley 84 de 1989 y a la resolución 8430 de 1993 (Título V) y a la aprobación del comité de ética para proyectos de investigación de la Universidad Industrial de Santander.

LABERINTO EN CRUZ ELEVADO

El LCE es un dispositivo hecho en madera con 4 brazos distribuidos en forma de cruz. Cada brazo mide 50x12 centímetros y están elevados 50 cm sobre el suelo. Dos de sus brazos, Brazos Cerrados, colocados uno al frente del otro tienen paredes laterales de 40 centímetros de altura permitiendo como única vía de acceso el centro del laberinto. Los otros dos brazos, Brazos Abiertos, de iguales dimensiones y con igual orientación, tienen como paredes laterales un pequeño borde de acrílico de 2 centímetros de altura.

FARMACO

Midazolam (MDZ) (Roche) fue utilizado en tres diferentes concentraciones (0.1, 0.25 y 0.5 mg/ kg intraperitoneal), para esto fue disuelto en solución salina (0.9%), utilizada como

control (vehículo). Todos los animales fueron inyectados 15 minutos antes de ser expuestos al LCE (Sesión 1 y 2) en un volumen de 1ml/ kg,

PROCEDIMIENTO

Todas las sesiones se ejecutaron bajo un nivel de 274 lux en el centro del laberinto, para esto los tres grupos experimentales, S, M, I, fueron subdivididos aleatoriamente según el tratamiento farmacológico.

Cada animal fue colocado en el centro del laberinto con la cabeza orientada hacia uno de los brazos cerrados, permitiendo la exploración libre durante 5 minutos (sesión 1), 36 horas después, cada grupo fue re-expuesto al mismo laberinto por 5 minutos (sesión 2). Después de la exposición de cada animal, el laberinto fue limpiado con una solución de etanol al 10% y papel absorbente.

Las sesiones fueron monitoreadas y filmadas con la ayuda de una cámara de video dispuesta a 1.5m sobre el laberinto y su señal fue enviada a un sistema TV-VHS ubicado en una sala adyacente para posterior registro y procesamiento de comportamientos utilizando un conjunto de programas computacionales, PROSTCOM¹⁷.

RESULTADOS

La Fig. 1 muestra los resultados obtenidos para el tiempo de permanencia en los brazos abiertos (TBA) del laberinto en cruz elevado, un ANOVA de dos factores evidenció un efecto significativo para el factor *tratamiento farmacológico*, ($F_{3,63} = 4,725$; $p < 0.05$) pero no así para el factor *nivel de iluminación* ($F_{2,63} = 2,753$; $p = 0,071$). Tampoco se reveló ninguna interacción significativa entre los dos factores en las diferentes variables comportamentales analizadas. No obstante, considerando que el poder de prueba para las interacciones estuvo alrededor 0.303 y que el poder de prueba deseable era de 0.8, esto debido al alto número de grupos y bajo tamaño de muestra, en todos los casos, se procedió con un criterio exploratorio, a estimar las interacciones entre los factores.

Un test de comparaciones múltiples (Bonferroni) indicó que los animales mantenidos en el nivel de iluminación inferior (103 lux) y tratados con una dosis de 0.5 mg/kg de Midazolam (MDZ) presentaron mayor tiempo de permanencia en los BA que aquellos

tratados con una dosis de 0.1 mg/Kg MDZ ($t=2,849$ $p<0.05$) o con solución salina (vehículo) ($t=3,051$ $p<0.05$) dentro del mismo grupo de nivel inferior. Dentro del factor “tratamiento farmacológico de 0.1 mg de MDZ /kg “, los animales expuestos al nivel de luz medio, presentaron menor tiempo de permanencia a los brazos abiertos que los expuestos al nivel de luz superior ($t=2,499$ $p<0.05$). Este mismo grupo no presentó diferencias significativas con el correspondiente del nivel de iluminación bajo.

La Fig. 2 muestra el porcentaje de entradas al BA (%EBA) del laberinto en cruz elevado, ANOVA muestra un efecto significativo para los dos factores, *tratamiento farmacológico*, ($F_{3,63}=4,692$; $p<0.05$) y *nivel de iluminación* ($F_{2,63}=2,139$; $p<0.05$). El test de comparaciones múltiples indica un mayor porcentaje de entradas para los grupos que fueron mantenidos en el nivel de iluminación superior respecto al nivel medio ($t=2846$; $p<0.05$). De manera semejante, dentro del nivel de iluminación inferior, el %EBA para el grupo de 0.5 mg MDZ/kg, fue significativamente mayor que el de SS ($t=3,558$ $p<0.05$). De igual manera, dentro del nivel medio de iluminación, los animales tratados con MDZ 0,25 mg/Kg presentaron mayor %EBA que los tratados con 0.1 mg/Kg. ($t=3,799$ $p<0.05$). Los animales mantenidos en el nivel de luz superior y tratados con la menor dosis de la benzodiazepina (MDZ 0.1), presentaron un mayor %EBA que aquellos animales tratados con esta misma dosis pero mantenidos en el nivel de iluminación medio ($t=2,499$ $p<0.05$).

Como se puede ver en la Fig. 3 los cruzamientos como índice de actividad locomotora muestran un efecto significativo por *nivel de iluminación* ($F_{2,63}=8,479$; $p<0,001$), pero no por *tratamiento farmacológico* ($F_{3,63}=1,210$; $p<0,05$). Comparaciones múltiples indican diferencias para esta variable comportamental, siendo mayor la actividad exploratoria de los animales ubicados en el nivel de iluminación superior ($t=4,069$ $p<0,05$) e inferior ($t=2,498$ $p<0,05$) con respecto al nivel medio. Los animales mantenidos en un nivel de iluminación alto y tratados con MDZ 0.5, mostraron más actividad locomotora que los tratados con la misma dosis del fármaco pero mantenidos bajo un nivel de iluminación medio ($t=3,646$ $p<0,05$).

La Fig. 4 muestra el tiempo en los brazos abiertos, cerrados y en el cuadro central del laberinto. No se encontraron diferencias significativas atribuibles al efecto de los diferentes niveles de iluminación en las cajas vivero sobre estas variables comportamentales en los animales que fueron expuestos al laberinto en cruz elevado sin benzodiazepina.

Las zonas del laberinto, BA y BC, son divididas para su registro en diferentes lugares, generalmente, los brazos cerrados son numerados del 1 al 3, mientras que los brazos abiertos se numeran del 5 al 7, siendo el lugar 1(BC) el más próximo al fondo del BC y el 3, ubicado a la salida del BC. El lugar 7 (BA) la zona distal del BA, mientras el 5 es la parte proximal del BA. La zona central es numerada con el 4. La tabla 1. Presenta el análisis realizado para cada una de estos lugares. ANOVA revela un efecto significativo de los dos factores sobre la frecuencia de entrada hecha por los animales a cada zona, mientras que el tiempo de permanencia se ve más afectado por el tratamiento farmacológico que por el nivel de iluminación.

Dada el efecto de ambas variables (tratamiento farmacológico y nivel de luz en el alojamiento) podrían influenciar las manifestaciones comportamentales de la rata durante la primera sesión, y dada la importancia de esta primera experiencia sobre el fenómeno conocido como “*one trial tolerance*”, se procedió a evaluar el efecto de tal experiencia sobre una re-exposición en el mismo laberinto.

La Tabla 2. Ilustra los resultados del ANOVA de tres factores (sesión, fármaco y luz). Se encontraron diferencias significativas en los TBA atribuibles a sesión, fármaco y a las interacciones entre fármaco y sesión. No hubo diferencias atribuibles al nivel de iluminación. Por otro lado, se encontraron diferencias entre los %EBA atribuibles a todos los factores e interacciones entre fármaco y sesión. Aquí se desea destacar que no hubo interacción significativa entre los 3 factores, ni sobre TBA ($F_{6,125}=0.526$, $p=0.788$), ni sobre %EBA ($F_{6,125}=0.314$, $p=0.929$).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los índices comportamentales que son analizados usualmente en el laberinto en cruz elevado, están presumiblemente relacionados con ansiedad y exploración.

Entradas y tiempos, ya sean absolutas o relativas en los dos ambientes del laberinto son tomados como índices de ansiedad, estos pueden ser modulados por fármacos, por variables propias del organismo o del procedimiento, como se expuso anteriormente.

Durante la exposición al laberinto, los animales adquieren información acerca del ambiente espacial, evidenciado esto por una exploración inicial seguida de una clara preferencia por

las zonas potencialmente seguras, esta preferencia podría estar siendo influenciada por las características aversivas de cada zona. Anteriormente se ha expuesto que los animales aparentemente evitarían zonas entre las cuales la diferencia de iluminación o gradiente sea alto, independiente de su valor absoluto¹⁰. Por esta razón se esperaba que al establecer una diferencia en la historia de iluminación en la que el animal había sido mantenido y la iluminación en la que sería evaluado, generaría respuestas dependientes de la similitud o diferencia entre estos dos ambientes.

Nuestros datos indican que mantener a los animales bajo tres diferentes niveles de iluminación no altera significativamente el tiempo que permanecen en los brazos abiertos TBA, por otro lado, esta variable comportamental si se ve influenciada por el efecto de la benzodiazepina dependiendo de la dosis (ver Fig. 1). Pero aunque los tiempos de permanencia en las zonas abiertas no muestran una clara relación de la influencia que pueden generar los niveles de iluminación, el porcentaje de entradas realizadas a los brazos abiertos % EBA, si muestra una respuesta comportamental posiblemente atribuible a la intensidad de iluminación donde son mantenidos, pues aquellos que fueron alojados en el nivel superior mostraron entradas más frecuentes en las zonas más iluminadas, es decir los brazos abiertos (ver Fig.2).

La expresión de comportamientos de evitación depende en gran medida de la capacidad visual del animal y puede ser influenciada por la actividad locomotora¹⁰ esta última ha sido sugerida como complemento de los comportamientos de tipo ansioso por lo que puede representar una medida indirecta de ansiedad¹⁸. Hasta este punto se ha relacionado el alojamiento en el nivel de iluminación superior como un facilitador en la entrada a las zonas más iluminadas, de igual manera en la actividad locomotora (ver Fig. 3) y en la frecuencia de entrada a las zonas abiertas del laberinto (ver Tabla 1).

Uno de los principales usos que se le ha dado al LCE es el *screening* de fármacos, para esto es necesario establecer una línea base de comportamiento ya que si esta es muy baja, impide la detección de agentes ansiogénicos o de agentes ansiolíticos si es muy alta. Nuestros resultados evidencian que ninguno de los niveles de iluminación ambiental donde son mantenidos los animales altera su comportamiento base (ver Fig. 4).

El protocolo de dos sesiones experimentales ha probado que una experiencia previa produce cambios duraderos en la respuesta comportamental, alterando la respuesta a la

benzodiazepina, nuestros datos muestran este efecto (Tabla 2) ya que se exhibe una disminución de actividad en los brazos abiertos que revelan la resistencia a los efectos del Midazolam. No obstante, la ausencia de interacción entre los 3 factores (fármaco, sesión y nivel de luz) pero con una interacción significativa de fármaco y sesión, sugiere que la primera experiencia en el laberinto supera los posibles efectos de la luz en el alojamiento en cuanto a las manifestaciones registradas en la segunda sesión.

El presente trabajo indica que el mantener los animales en diferentes niveles de iluminación parece producir una respuesta comportamental heterogénea en la primera exposición al LCE, en los diferentes grupos, impidiendo predecir si los animales percibirán este estímulo de manera diferente y si esto tendrá un efecto en la respuesta comportamental para los animales tratados con la benzodiazepina, por lo que se hace difícil atribuir la respuesta observada a la iluminación ambiental ofrecida a los animales antes de ser evaluados, ya que la ausencia de diferencias estadísticas para los animales control, muestran que no es alterada la línea base de comportamiento. El principal acercamiento que permiten nuestras observaciones es la posible influencia que pueda ejercer el nivel de iluminación en la actividad de exploración del laberinto especialmente de las zonas abiertas, así como la observación en la disminución del efecto producido por las benzodiazepinas en ratas re-expuestas al laberinto, como ha sido reportado continuamente en la literatura y que no parece alterarse por el nivel de iluminación en zonas como bioterios o salas de experimentación.

Un aspecto importante a ser considerado es que si se desea identificar el efecto de tipo ansiolítico de un fármaco, este se evidenciaría mejor si los animales fueran alojados en bajos niveles de luz y expuestos a una luz alta en el LCE como se ilustra en las figuras 1 y 2.

REFERENCIAS

1. Van der Staay J F. Animal models of behavioral dysfunctions: Basic concepts and classifications, and an evaluation strategy. *Brain Research Reviews* 2006; 52: 131–159.
2. Clement Y, Chapouthier G. Biological Bases of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 1998; 22: 623-633.
3. Rodgers RJ, Dalvi A. Anxiety, Defence and the Elevated Plus-Maze. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 1996; 21: 801-810.
4. Pellow S, File S. Anxiolytic and Anxiogenic Drug Effects on Exploratory Activity in an Elevated Plus-Maze: a Novel Test of Anxiety in the Rat. *Pharmacology Biochemistry & Behavior* 1985 ;24: 525-529.
5. Johnston AL, File SE. Sex differences in animal tests of anxiety. *Physiology and Behavior* 1991; 49: 245-250.
6. Imhof JT, Coelho ZM, Schmitt ML, Morato GS, Carobrez AP. Influence of gender and age on performance of rats in the elevated plus maze apparatus. *Behavioural Brain Research* 1993; 56: 177-180.
7. Bessa JM, Oliveira M, Cerqueira JJ, Almeida OFX, Sousa N.. Age-related qualitative shift in emotional behavior: Paradoxical findings after re-exposure of rats in the elevated-plus maze. *Behavioural Brain Research* 2005;162: 135-142.
8. Rodgers RJ, Cole JC. Influence of social isolation, gender, strain, and prior novelty on plus maze behavior in mice. *Physiology and Behavior* 1993; 54: 729-736.
9. Griebel G, Moreau JL, Jenk F, Martin JR, Misslin R. Some critical determinants of the behavior of rats in the elevated plus-maze. *Behavioural Processes*1993;29: 37-48.
10. Pereira LO, Da Cunha IC, Neto JM, Aparecida M, Serralvo M. The gradient of luminosity between open/ enclosed arms, and not the absolute level of lux, predicts the behaviour of rats in the plus maze. *Behavioural Brain Research* 2005;159: 55-61.
11. Salum C, Roque-da-Silva R, Morato S.. Conflict as a determinant of rat behavior in three types of elevated plus-maze. *Behavioural Processes* 2003; 63: 87-93.

12. Conde CA, Ayala JO, Botelho S, Berena A, Velásquez MC x. La vía visual puede ser el disparador de ansiogenicidad en el modelo del Laberinto en Cruz Elevado. *Salud UIS* 2003; 33: 190-195.
13. Botelho S, Estanislau C, Morato S. Effects of under- and overcrowding on exploratory behavior in the elevated plus-maze. *Behavioural Processes* 2007; 74: 357-362
14. Morato S, Brandao ML. Transporting rats to the situation on a cart can modify rat exploratory behavior in the elevated plus maze. *Psychobiology* 1996; 24: 247-252.
15. Conde CA, Nieto J, Orozco, LC. Análisis comportamental de ratas expuestas al laberinto en cruz elevado bajo dos horarios de alimentación. *Salud UIS* 2008; 40: 83-91.
16. Martínez R, García AMB, Morato S. Papel da luminosidade do bioterio no comportamento do rato no labirinto em cruz elevado. *Estudos de Psicologia* 2005; 10: 239-245.
17. Conde C, Costa V, Tomaz C. PROSTCOM. Un conjunto de programas para registro y procesamiento de datos comportamentales en investigaciones de fisiología y farmacología. *Biotemas* 2000; 13: 145-159.
18. Handley SL, Mithani S. Effects of alpha-adrenoceptor agonist and antagonist in a maze exploration model for "fear-motivated" behavior. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 1984; 327: 1-5.

Figuras

Figura 1. Tiempo en los Brazos Abiertos en la sesión 1. Los datos representan la media \pm error estándar del tiempo de permanencia en los brazos abiertos (TBA) del laberinto. (*) $p < 0.05$ en relación a los grupos tratados con MDZ 0.1 y mantenidos en los niveles de iluminación media y superior y (#) $p < 0.05$ en relación a los grupos tratados con solución salina (vehículo) y MDZ 0.5 expuestos al nivel de iluminación inferior.

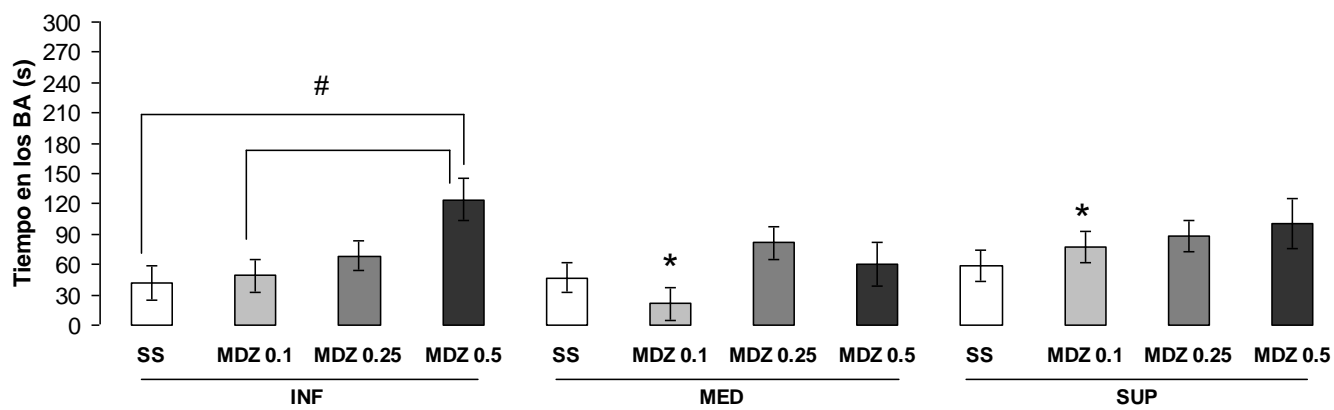


Figura 2. Porcentaje de entradas en los Brazos Abiertos en la sesión 1. Los datos representan la media \pm error estándar del porcentaje de entradas a los brazos abiertos (%EBA). (*) $p < 0.05$ en relación a los grupos mantenidos en el nivel de iluminación superior, ($^{\circ}$) $p < 0.05$ en relación a los grupos tratados con MDZ 0.1 y mantenidos en los niveles de iluminación media y superior, (+) $p < 0.05$ en relación a los grupos expuestos al nivel de iluminación medio y tratados con MDZ 0.1 y MDZ 0,25, (#) grupos mantenidos en el nivel de iluminación inferior y tratados con solución salina (vehículo) y MDZ 0.5.

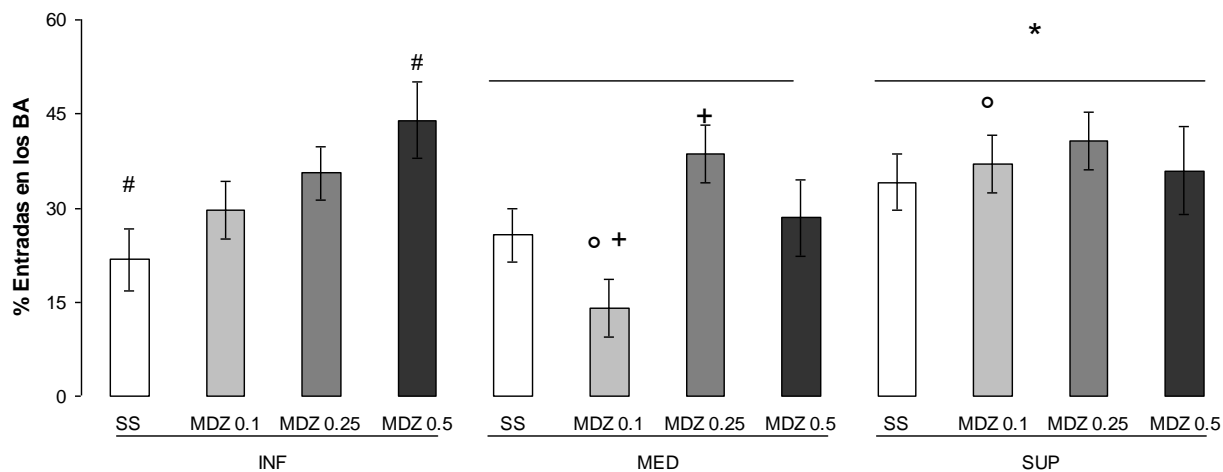


Figura 3. Actividad Locomotora sesión 1. Representan la media \pm error estándar del número total de cruzamientos realizados por los animales en el laberinto. (*) $p < 0.05$ en relación a los grupos expuestos al nivel de iluminación inferior y superior respecto al nivel medio y (#) en relación a los grupos tratados con MDZ 0.5 y mantenidos en los niveles de iluminación media y superior.

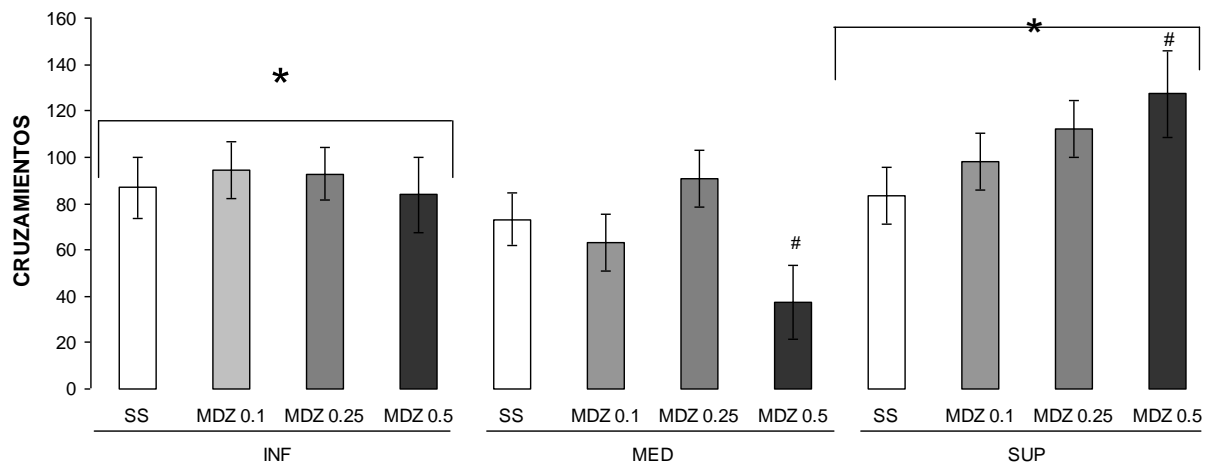


Figura 4. Tiempo en los brazos abiertos (TBA), cerrados (TBC) y en el cuadro central del laberinto en cruz elevado en los animales tratados con solución salina en la sesión 1. Las barras indican la media \pm error estándar.

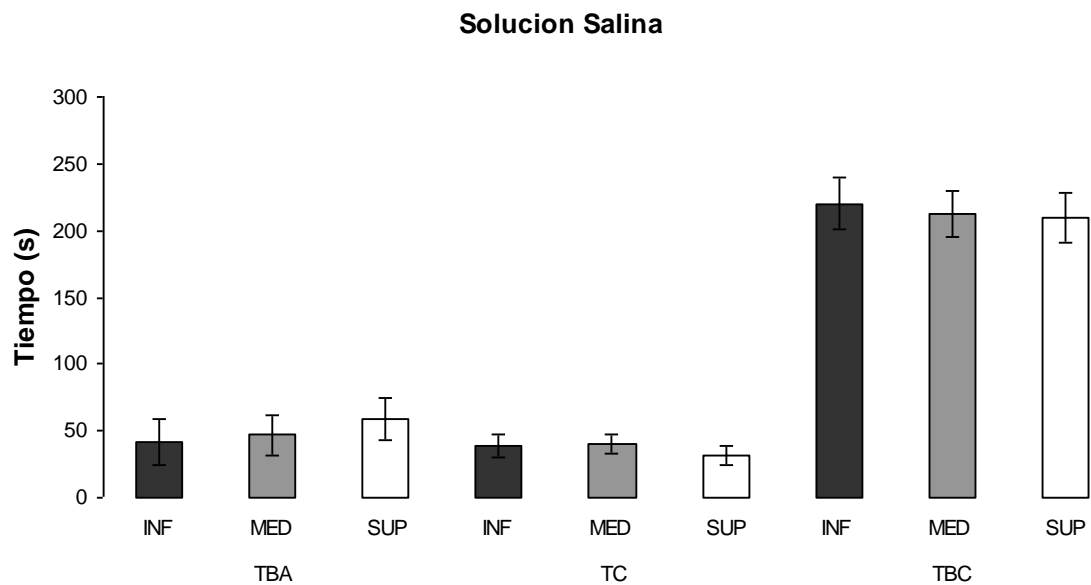


Tabla 1.

ANOVA de dos factores para los tiempos y frecuencias en cada una de las zonas en que es dividido el laberinto.

Lugar en el laberinto	Tratamiento Farmacológico	Nivel de Iluminación
Frecuencias		
Lugar 7 sesión 1	F _{3,63} =5,283; p=0,03*	F _{2,63} =5,950,p=0,004*
Lugar 6 sesión 1	F _{3,63} =5,283; p=0,003*	F _{2,63} =6,220,p=0,003*
Lugar 5 sesión 1	F _{3,63} =4,196; p=0,009*	F _{2,63} =7,732,p<0,001*
Lugar 4 sesión 1	F _{3,63} =1,074; p=0,367	F _{2,63} =8,508,p<0,001*
Lugar 3 sesión 1	F _{3,63} =0,418; p=0,741	F _{2,63} =4,954,p=0,010*
Lugar 2 sesión 1	F _{3,63} =0,512; p=0,676	F _{2,63} =4,457,p=0,015*
Tiempo		
Lugar 7 sesión 1	F _{3,63} =3,491; p=0,021*	F _{2,63} =2,094,p=0,132
Lugar 6 sesión 1	F _{3,63} =8,160; p<0,001*	F _{2,63} =1,551,p=0,220
Lugar 3 sesión 1	F _{3,63} =8,664; p<0,001*	F _{2,63} =0,796,p=0,456

(*) Se presentan los valores para los tiempos y frecuencias en los que al menos uno de los dos factores fue significativo. En ninguna de las variables la interacción de los dos factores fue significativa.

Tabla 2.

Resultado análisis estadístico ANOVA comparación entre sesiones.

Tiempo en los Brazos Abiertos	% Entradas Brazos Abiertos
Sesión	
F1,125=33,064; p<0,001	F1,125=25,438; p<0,001
Tratamiento Farmacológico	
F3,125=4,056; p=0,009	F3,125=3,784; p=0,012
Nivel de luz	
F2,125=2,540; p=0,083	F2,125=3,685; p=0,028
Interacción Tratamiento Farmacológico-Sesión	
F3,125=3,606; p=0,015	F3,125=3,185; p=0,026

Los animales recibieron salina (0,9%), Midazolam (0.1,0.25 y 0.5 mg/kg) intraperitoneal 15 minutos antes de ser expuestos al LCE y después de haber sido mantenidos en 3 diferentes niveles de iluminación ambiental en la sala experimental, inferior (103 lux), medio (117 lux) y superior (128 lux).