




Artículo original


Efecto de un extracto de *Azadirachta indica* en el aprendizaje y memoria espacial en *Rattus rattus*

Effect of Trichocereus Pachanoi extract on learning and spatial memory in Rattus rattus

Davis Alberto Mejía Pinedo ¹  

Juan Luis Rodríguez Vega ¹ 

Jorge Luis Campos Reyna ¹ 

Jose Elias Cabrejo Paredes ¹ 

Miryam Griselda Lora Loza ¹ 

¹Universidad Nacional de Trujillo, Escuela de Posgrado. Trujillo, Perú.

Recibido: 10/5/2022

Aceptado: 9/9/2022

RESUMEN

Introducción: El *neem* es un fruto oriundo de la india que presenta en su composición flavonoides, los cuales podrían facilitar estados de memoria y aprendizaje espacial en ratas favorables de acuerdo a sus índices de aprendizaje.

Objetivo: Evaluar el efecto del extracto de *Azadirachta indica* sobre el aprendizaje y memoria espacial en *Rattus rattus*

Métodos: Se desarrolló un diseño de estímulo creciente. Se ordenaron dos grupos semejantes de cinco ratas, cada uno a escala piloto, agrupándose de acuerdo a la



Este material es publicado según los términos de la Licencia Creative Commons Atribución–NoComercial 4.0. Se permite el uso, distribución y reproducción no comerciales y sin restricciones en cualquier medio, siempre que sea debidamente citada la fuente primaria de publicación.

concentración de dosis, a los que se les dio por vía oral el extracto a diferentes concentraciones y el grupo testigo no se le dio tratamiento valorando el aprendizaje y memoria espacial en el laberinto acuático de Morris.

Resultados: Las ratas que en línea base presentaron un comportamiento compatible con aprendizaje y memoria espacial evidenciando un tiempo promedio similar para desarrollar los tiempos de latencia de la fase de adquisición y en la fase de retención; al aplicar la dosis de 200 y 400 mg/kg los índices de aprendizaje del piloto se movilaron discretamente a la derecha. Por lo tanto, se acortó el tiempo de latencia de la fase de adquisición, durante la fase de retención se evidenció un desarrollo de la memoria según el índice de aprendizaje.

Conclusiones: El tratamiento *in vivo* con el extracto de *Azadirachta indica* ha presentado un efecto positivo en los sujetos experimentales a nivel de la duración de la conducta motora en el laberinto acuático de Morris, logrando índices de aprendizaje pertinentes.

Palabras clave: aprendizaje; memoria espacial; extracto de *neem*.

ABSTRACT

Introduction: *Neem* is a fruit native to India that presents flavonoids in its composition, which could facilitate favorable memory and spatial learning states in rats according to their learning indices.

Objective: To evaluate the effect of *Azadirachta indica* extract on learning and spatial memory in *Rattus rattus*.

Methods: An increasing stimulus design was developed. Two similar groups of five rats were arranged, each at pilot scale, grouped according to the dose concentration, which were given the extract orally at different concentrations and the control group was not treated, assessing learning and spatial memory in the Morris water maze.

Results: The rats that in baseline presented a behavior compatible with learning and spatial memory evidencing a similar average time to develop the latency times of the acquisition phase and in the retention phase; when applying the doses of 200 and 400 mg/kg the learning rates of the pilot moved discreetly to the right. Therefore, the latency time of the acquisition phase was shortened, during the retention phase a memory development according to the learning index was evidenced.

Conclusions: The *in vivo* treatment with *Azadirachta indica* extract has presented a positive effect on the experimental subjects at the level of the duration of motor behavior in the Morris water maze, achieving relevant learning indexes.

Keywords: learning; spatial memory; neem extract.



Introducción

El aprendizaje es el proceso mediante el cual un organismo cambia su comportamiento para adaptarse a los cambios en el entorno circundante y las condiciones impredecibles. Junto con el poder selectivo de la evolución, el aprendizaje constituye el principal método de adaptación biológica.⁽¹⁾ Cuanto más cambia el entorno, más plasticidad debe ser la conducta, por lo que los organismos que viven en diferentes entornos también exhiben diferentes grados de plasticidad conductual. Esta plasticidad a su vez refleja la plasticidad de las neuronas y el sistema nervioso que caracterizan al organismo. Cuanto mayor sea la plasticidad del sistema nervioso, mayor será la posibilidad de aprender en los animales. Por tanto, el aprendizaje puede considerarse como un cambio en el sistema nervioso, que es provocado por la experiencia y conduce a cambios duraderos en el comportamiento del organismo.⁽²⁾

Las plantas medicinales siempre han sido una fuente de sustancias farmacológicamente activas de importancia terapéutica y constituyen una parte de la medicina tradicional y moderna, alimentos y productos nutracéuticos.⁽³⁾ En 2005, la Organización Mundial de la Salud (OMS) señaló que más del 80 % de la población mundial depende de las plantas medicinales para resolver problemas de salud en la atención primaria y recomendó más investigaciones en este campo, especialmente en el tratamiento de enfermedades crónicas.⁽⁴⁾ Desde 1948 las propiedades antiinflamatorias de la hesperidina, la naringina y la nobitina han estado presentes en los componentes solubles en agua de casi todas las especies de cítricos. Desde entonces, muchos estudios *in vivo* e *in vitro* han descrito las propiedades antiinflamatorias de los flavonoides.^(5,6,7) Además de sus propiedades antiinflamatorias, se describen los diversos efectos de estos metabolitos, pero no mencionan su impacto en el sistema nervioso central y por añadidura en la memoria y aprendizaje, lo cual está en pleno estudio y se comentará a continuación.⁽⁸⁾

El *neem*, cuyo nombre científico es *Azadirachta indica*, es una planta que presenta un alto contenido de principios activos, los que le facultan para ser utilizada como agente terapéutico para diferentes enfermedades, hecho conocido desde antaño. Es una de las antiguas plantas hindúes de las que se han descubierto sus propiedades y usos peculiares.⁽⁹⁾ El *neem* presenta uso tradicional, sus propiedades fueron descritas en sánscrito antiguo durante 4000 años.⁽¹⁰⁾

En la India, el *neem* se llama "farmacia de aldea" debido a sus múltiples usos para tratar diversas enfermedades.⁽¹¹⁾ Las hojas, semillas, flores y aceites de los árboles tienen efectos analgésicos, repelentes, antipiréticos, antisépticos, astringentes, calmantes, diuréticos, promotores de la piel, hidratantes y laxantes. Se ha demostrado que el extracto de *Azadirachta indica*, tiene propiedades antibacterianas, antidiabéticas, antifúngicas y antivirales.⁽¹²⁾ Existen compuestos especiales en su estructura, como los terpenoides o más específicamente limonoides, kaempferol, estos compuestos están constituidos principalmente por cobre, hidrógeno y oxígeno. La presencia de oxígeno hace que estos compuestos presenten mayor solubilidad en agua, metanol o etanol, que el hexano.^(13,14,15) La limonina es producida por especies de la familia *Rutaceae*. Son compuestos estereoquímicos homogéneos cuya estructura típica se deriva del esqueleto



esteroide 4,4,8-trimetil-17-furanilo como precursor, por ejemplo, e compuestos limonoides, en forma de limón en el anillo D de C-17 tiene un anillo de furano.^(16,17,18) No existen abundantes investigaciones sobre sus frutos. Este fruto podría tener capacidad para mejorar el aprendizaje y la memoria espacial.

Métodos

En cuanto al diseño de estudio este fue de tipo experimental a estímulo creciente, considerando los siguientes grupos de tratamiento,^(19,20,21) con los grupos de ratas distribuidos de la siguiente forma:

Control negativo: ratas sin extracto: 2

Experimento: tratamiento con extracto a dosis 200 mg/kg: 5

Tratamiento con extracto a dosis 400 mg/kg: 5

Después de los 14 días del periodo de cuarentena, al día 15 se administró por vía oral utilizando una cánula al sujeto de experimentación, a las 8 de la mañana, 2 horas antes del procedimiento en el laberinto acuático de Morris.⁽²²⁾

Muestra

El material de estudio zoológico consistió en 20 *Rattus rattus*, machos, de dos meses, con peso corporal entre 150-200 gramos, adquiridos del Instituto Nacional de Salud, Chorrillos, Lima, que se alojaron en un bioterio, con las condiciones convencionales de aclimatación y manutención en el bioterio fueron de temperatura ambiente a 23 °C, humedad relativa de 88 %, con fotoperiodos de luz-obscuridad de 12 horas cada uno; la alimentación balanceada estuvo dada a base de Purina® para roedores. Estos especímenes fueron agrupados muestralmente según el método de Mead.^(23,24,25)

Procedimiento

Preparación del extracto

Se utilizó, el método descrito por *Lecca* y otros,⁽²⁴⁾ se seleccionaron los frutos de *Azadirachta indica* según en buen estado, avalados y certificados por el Herbarium Truxillensis HUT de la Universidad Nacional de Trujillo, Perú. El fruto fue lavado en abundante agua para eliminar contaminantes. Se procedió en el laboratorio con 870 g



Este material es publicado según los términos de la Licencia Creative Commons Atribución-NonComercial 4.0. Se permite el uso, distribución y reproducción no comerciales y sin restricciones en cualquier medio, siempre que sea debidamente citada la fuente primaria de publicación.

obtenidos del fruto. El cual se disolvió en 16 litros de agua, luego se filtró sobre papel de algodón y se congeló a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas para obtener un material en estado sólido. Utilizando un liofilizador de 4,5 L, el extracto de agua congelada se deshidrató por sublimación a baja temperatura y presión de vapor ($-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $1,33 \times 10^{-3}$ MBARR) esto durante 72 horas. Se pesó el producto con una balanza analítica y se almacenó en un frasco cerrado y protegido de la luz en un ambiente seco por debajo de los $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.⁽²⁶⁾

Evaluación de la memoria espacial

Para el proceso de evaluación se empleó el laberinto acuático de Morris que es una piscina circular de 120 cm de diámetro y 56 cm de altura, la cual fue llenada con agua a temperatura fría ($17\text{-}19\text{ }^{\circ}\text{C}$), esta se dividió en cuatro cuadrantes imaginarios donde en la zona media del cuadrante noreste se sumerge una plataforma de 19 cm de altura y 12 cm de diámetro; considerando esta posición como la salida del laberinto acuático de Morris. Es aquí donde se logró valorar dos fases:

- A. Fase de adquisición del aprendizaje (en esta fase se mantiene la plataforma y se asignan claves visuales: cruz y aspa)
 - a. Se introduce al animal con el hocico orientado a las paredes del cilindro, diariamente se le coloca en el agua en un cuadrante diferente excepto en el cuadrante noreste, de esta manera se consigue que el animal logre encontrar la plataforma empleando para esto las claves visuales, mas no vías de carácter directo: luego se le deja en natación libre por 180 s (2 min, aproximadamente)
 - b. Trascurrido los 180 s, si el animal no hubiera logrado hallar la plataforma, el experimentador le muestra la plataforma y deja que el animal permanezca en ella unos 15 segundos antes de realizar el próximo intento. Se repite este ensayo como máximo dos oportunidades de 180 s cada una, hasta que logre encontrar la plataforma. Se considera por concluido el ensayo del día si el animal hace el test antes de tiempo o si no encuentra la plataforma en dos oportunidades.
 - c. Se tomó también como criterio si en cada uno de los tres ensayos de adquisición, al registrar el tiempo de latencia de escape (encontrar la plataforma de escape) el animal logra encontrar la plataforma antes de los 180 s. El tiempo se considera igual a cero segundos en el resto de ensayos que aún queden por realizar.
- B. Fase de retención o memoria (en este test las claves visuales están presentes: la cruz y el aspa; mas no está presente la plataforma). Esta fase se aplicó tres días después y tres meses después.
 - a. En este ensayo carácter único se dejó en natación al animal por 60 s. Se tomó el tiempo que la rata permanecía en el cuadrante noreste, donde en los ensayos de adquisición estuvo la plataforma de salida (tiempo de permanencia).
 - b. Es catalogado el tiempo máximo de 120 s para esta fase de retención.



El índice de aprendizaje

En el experimento se consideraron dos etapas: de adquisición (EA) y de recuperación (ER). Se calculó el índice de aprendizaje (IAP) de acuerdo con la ecuación de *Davolio* y otros como:⁽²⁵⁾

$$IAP = 1 - \frac{TE}{TM} \quad (1)$$

Donde:

TE es el tiempo empleado

TM es el tiempo máximo permitido: 180 s para la EA y 120 s para la ER.

Se consideró:

- *Aprendizaje pobre*: $0 \leq IAP < 0,4$
- *Aprendizaje regular*: $0,4 \leq IAP < 0,6$
- *Aprendizaje bueno*: $0,6 \leq IAP < 0,8$
- *Aprendizaje excelente*: $0,8 \leq IAP \leq 1$

Análisis estadístico

Se emplearon métricas descriptivas para lo cual se utilizó un aplicativo en Microsoft Excel. La evaluación de los resultados obtenidos se comparó los respectivos índices de aprendizaje. Para evaluar los resultados obtenidos mediante la prueba de significancia DMS de la diferencia de medias. Se realizó una prueba complementaria de Tukey, además se aplicó la prueba análisis de la varianza (ANOVA) de un factor para los grupos. En esta prueba se obtuvieron valores de F_o de 376,33 que es el valor calculado y un valor F_t de 8,85 que representa el valor tabular para cuando está presente una probabilidad de error de $p < 0,05$. Estos valores se compararon posteriormente en la prueba estadística desarrollada.

Aspectos éticos

Para referirse a la ética de investigación con animales de laboratorio, se tuvo en cuenta los principios éticos de las tres R de *Russel* (reemplazo, reducción y refinamiento). Asimismo, se consideró la Ley 30407 “Ley de protección y bienestar animal”.⁽²⁶⁾ También



Este material es publicado según los términos de la Licencia Creative Commons Atribución–NoComercial 4.0. Se permite el uso, distribución y reproducción no comerciales y sin restricciones en cualquier medio, siempre que sea debidamente citada la fuente primaria de publicación.

los criterios elementales de la American Veterinary Association para el tratamiento de mamíferos pequeños en experimento^(27,28,29,30). Además, se emplearon las normas éticas de la experimentación animal de la *Guía de Manejo y Cuidado de los Animales* propuesta por el Ministerio de Salud del Perú para la optimización de un medio adecuado y libre de peligros, así como una adecuada calidad de vida.⁽²⁹⁻³¹⁾

Resultados

En la tabla 1 se resumen los resultados de aprendizaje a nivel de línea base y experimento piloto según los tiempos de latencia del aprendizaje. Se evidenció menores tiempos según avanzan del 1.º al 3.º día en el desplazamiento del laberinto acuático de Morris, y según la concentración de dosis de 200 a 400 mg/kg de peso el tiempo de ejecución es menor. Al 7.º día, o día 4 y 5 de prueba en la fase de retención, se encontró una similitud con el tiempo desarrollado en el día 1, lo cual se valora al aplicar los índices de aprendizaje.

Tabla 1 - Tiempos de latencia de aprendizaje en las fases de adquisición y de retención

Grupos	Promedio de la Fase de adquisición			Promedio de la Fase de retención	
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4 (Día 7)	Día 5 (3 meses después)
Control	29	30	33	32	33
Tratamiento dosis 200	30	29	29	29	30
Tratamiento dosis 400	32	28	26	30	28

La tabla 2 expresa el puntaje corregido a índices de aprendizaje según la fórmula de *Davolio*. Se apreciaron índices de aprendizaje excelentes de acuerdo a la dosis empleada cuyas unidades de probabilidad se aproximan a niveles altos de aprendizaje excelente, y mantienen un aprendizaje bueno con tendencia alta en la fase de retención (Fig. 1).

Tabla 2 - Índices de aprendizaje durante las fases de adquisición y de retención

Grupos piloto (Grupos de 3 ratas)	Promedio de la Fase de adquisición			Promedio de la Fase de retención	
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4 (Día 7)	Día 5 (3 meses después)
Ratas control	0,83	0,83	0,82	0,82	0,79
Ratas dosis 200	0,83	0,83	0,83	0,83	0,80
Ratas dosis 400	0,82	0,84	0,85	0,83	0,84



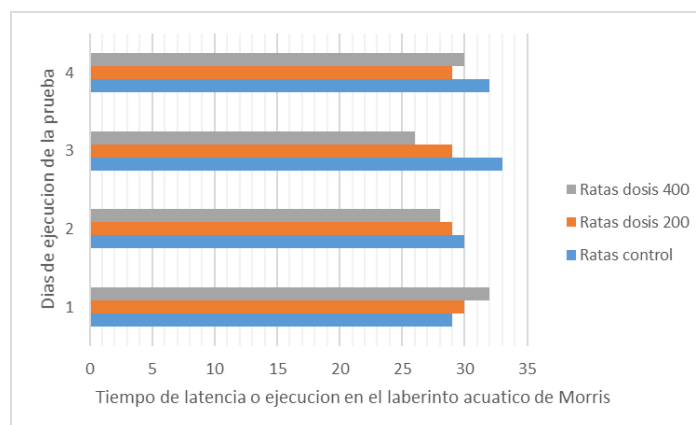


Fig. 1 - Tiempos de latencia de aprendizaje en las fases de adquisición y de retención disponibles en repositorio de unitru.edu.pe

Discusión

Los flavonoides se atribuyen a sus propiedades antioxidantes, principalmente porque su estructura química les da el potencial permanecer en el tejido buen tiempo, por lo que la actividad antioxidante puede ser causada por su capacidad reductora. Se han descrito algunos flavonoides con actividad en la memoria y una participación activa en mecanismos relacionados con el aprendizaje.

En este estudio se postula que el limoneno presente en el *neem* podría tener un mecanismo neurotrófico pertinente para el desarrollo, crecimiento y función de las neuronas. Siguiendo estudios que señalan que algunos flavonoides regresionan la pérdida de memoria inducida por β -amiloide en modelos animales tipo ratón,⁽⁸⁾ se postula que existe una interacción selectiva del flavonoide con dos proteínas quinasas: proteína quinasa activada por nitrógenos (MAPK) (relacionada con el crecimiento celular) y proteína de unión al elemento de reconocimiento de AMPc (CREB) (una proteína de transcripción), su activación conduce al crecimiento de nuevas conexiones sinápticas, proporcionando así un estado de memoria estable a largo plazo.

En 2007, un equipo de investigación demostró que el flavonoide nobitina interactúa con el sistema glutamatérgico (especialmente los receptores AMPA) y ejerce un efecto directo sobre la memoria.^(28,29) Por otro lado, es necesario recordar que, desde la década de 1960, los ansiolíticos más utilizados en la práctica clínica han sido las benzodiazepinas (BDZ), que se utilizan para tratar la epilepsia, el insomnio, determinadas depresiones, algunos estados emocionales, etc. Las benzodiazepinas presentan una interacción con los receptores GABAérgicos de tipo A.^(12,13) Estos receptores son proteínas transmembrana ensambladas por heterooligómeros, porque están compuestos por varias subunidades, que constituyen canales iónicos que pueden



permear iones cloruro (Cl^-), y sus ligandos son grupos γ -amino Ácido butírico (GABA). Cuando el GABA se une al receptor, el canal de iones se abre, permitiendo el flujo de iones de cloruro, hiperpolarizando así la membrana de la neurona receptora e inhibiendo la transmisión de impulsos nerviosos, lo que resulta en un efecto calmante.

En la década de 1980, *Paladini*⁽¹⁴⁾ observó una estructura similar, afinidad y reacción farmacológica entre BDZ y flavonoides. Se han publicado innumerables artículos científicos sobre estudios *in vivo* e *in vitro* para describir los efectos farmacológicos de la síntesis de flavonoides naturales y sintéticos, así como estudios teóricos de cálculos *ab initio* para establecer un modelo de interacción ligando-receptor (flavonoide-receptor GABA-A) que correlacione la estructura y propiedades fisicoquímicas de estos compuestos con afinidad por diferentes sitios receptores y las reacciones farmacológicas y de comportamiento posteriores. En estos estudios, se logró diseñar un modelo farmacóforo que describe las condiciones mínimas necesarias para la unión efectiva específica de flavonoides al sitio flavonoide (FS) del receptor (igual que BDZ) GABA. En este modelo, el grupo carbonilo del flavonoide solo interactúa con el sitio bifuncional H2 / A3, y el anillo B está ubicado cerca de la región lipofílica de L2. El anillo A en los flavonoides se superpone con el anillo 5-fenilo de diazepam; no hay interacción entre los flavonoides y el sitio H1, y no hay posibilidad de interacción con A2; lo cual cumpliría para el caso del limoneno presente en el *neem*. Esto sería el modelo explicativo de su actividad en la memoria y el aprendizaje espacial, un modelo desarrollado teniendo en cuenta la bioética.^(30,31)

Se concluye, que el tratamiento *in vivo* con el extracto de *Azadirachta indica* tiene un efecto positivo sobre los índices de aprendizaje que se manifiesta en la duración de la conducta motora en los animales de experimentación.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Trujillo y la Escuela de Postgrado por las facilidades brindadas para la implementación del presente trabajo.

Referencias bibliográficas

1. Halim E. Lowering of blood sugar by water extract of *Azadirachta indica* and *Abroma augusta* in diabetes rats. *J Exp Biol.* 2004 [acceso: 17/12/2021]; 41(6):636-40. PMID: [15266913](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15266913/)



Este material es publicado según los términos de la Licencia Creative Commons Atribución–NoComercial 4.0. Se permite el uso, distribución y reproducción no comerciales y sin restricciones en cualquier medio, siempre que sea debidamente citada la fuente primaria de publicación.

2. Huang Q, Xiaohui H, Chourong. Pharmacophore/receptor models for GABAA/BZ subtypes (α1 β3 γ2 α5 γ2 α6 β3 γ2) Via a comprehensive ligand-mapping approach. *J Med Chem* 2000;43:71-95.
3. Kahberg P. Refinement and evolution of a pharmacophore model for flavone derivatives binding to the benzodiazepine site of the GABAA receptor. *J Med Chem* 2002;45:4188-4201.
4. Infantes A y Cols. Guía de Práctica Clínica sobre Diabetes en el SNS. Madrid. 2010. [acceso: 17/12/2021]. Disponible en: <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/prevention/diabetes-risk-test>
5. Villarreal R. Hormonas reguladoras de energía metabólica. Variables Findrisk. *Rev. Clínica Médica Familiar*. 2010 [acceso: 17/12/2021]; (6):13-5. Disponible en: <http://www.fundaciondiabetes.org/findrisk/FactoresRiesgo.asp>
6. Ramos H, Méndez J. Diabetes mellitus Experimental. *Ciencia Veterinaria*. 1994. [acceso: 17/12/2021]; (6):358-66. Disponible en: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol6/CVv6c12.pdf>
7. Paulina M. Desarrollo de micro-albúmina en la diabetes experimental Inducida por estreptozotocina. [Tesis]. Universidad Autónoma de Chile; 2012. [acceso: 17/12/2021] Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fcr173d/doc/fcr173d.pdf>
8. Halim E. Lowering of blood sugar by water extract of *Azadirachta indica* and *Abroma augusta* in diabetes rats. *J Exp Biol*. 2004;41(6):636-40. PMID: [15266913](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15266913/)
9. Omina M. Molecular and Biochemical Effect of Neem Extract on Experimental Diabetes STZ. *Rev Española*. 2012 [acceso: 17/12/2021]; 7(7):23-35. Disponible en: <http://www.iosrjournals.org/iosr-jac/papers/vol7-issue7/Version-2/E07722429.pdf>
10. Unidad de Investigación en Ciencias Funcionales. Efecto del extracto de hojas de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) en la Diabetes Mellitus inducida por Estreptozotocina en ratones. *Gaceta de Ciencias Veterinarias*. 2010 [acceso: 17/12/2021]; 15(2):64-71. Disponible en: <http://www.ucla.edu.ve/dveterin/departamentos/CienciasBasicas/gcv/2530int2530er2530no/articulos/documasp/~vol15num2art4dic10.pdf>
11. Isea Fernández GA, Rodríguez Rodríguez IE, Sánchez Camarillo EE, Montero Urdaneta MA. Efecto hipoglicémico de *Azadirachta Indica* A. Juss., *Phyllanthus niruri* L. y su combinación en ratas normales. *Rev Cubana Plant Med*. 2011 [acceso: 17/12/2021]; 16(2):183-9. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962011000200007&lng=es



12. López Gomar MM. Caracterización de la fracción lipídica extractable de la semilla del árbol de neem (*Azadirachtin Indica A. Juss*) obtenida a nivel laboratorio por lixiviación. [Tesis]. Universidad San Carlos de Guatemala; 2012.
13. Meotti FC, Posser T, Missau FC, Pizzolatti MG, Bainy Leal R, Santos ARS. Involvement of p38MAPK on the antinociceptive action of myricitrin in mice. *Biochem Pharmacol* 2007;74(6):924-31.
14. Paladini A, Marder M, Medina J. Detection of benzodiazepine receptor ligands in small libraries of flavone derivatives synthesized by solution phase combinatorial chemistry. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;249:481-5.
15. Redollar D, Ferran B, Cristina M, Roser N, Jordi S. *Farmacología y Endocrinología del comportamiento.* Barcelona: Editorial UOC; 2012. p. 193-19.
16. Wang LE, Cui XY, Cui SY, Cao JX, Zhang J, Zhang YH, *et al.* Potentiating effect of spinosin, a C-glycoside flavonoid of *Semen Ziziphi spinosae*, on pentobarbital-induced sleep may be related to postsynaptic 5-HT_{1A} receptors. *Phytomedicine* 2010;17:404-409. DOI: [10.1016/j.phymed.2010.01.014](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.01.014)
17. Rodríguez-Vega J, García-Ishimine R, Mejía-Pinedo D. Exploración del efecto de *Trichocereus pachanoi* en el carácter depresivo en ratas. *Revista Habanera de Ciencias Médicas.* 2021 [acceso: 17/12/2021]; 20(2). Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2957>
18. Sánchez H, Reyes C. *Metodología y diseños en la investigación científica.* Lima: Editorial Mantaro; 1998. p 14-16; 77.
19. Soto V. *Bases para la investigación científica y tesis universitaria.* Colegio Médico del Perú. CR VIII. Chiclayo; 1989. p. 25.
20. Falcón P, Zabaleta V. *Metodología de la investigación científica.* CEPEUNT. Universidad Nacional de Trujillo; 1978. p. 40-79.
21. Manson W, Lott D. *Ethology and comparative psychology.* *Annual Review of Psychology.* 1987 [acceso: 17/12/2021]; 27:129-54. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/805/80519205.pdf>
22. Bickel W, Marsch L. Toward a behavioral economic understanding of drug dependence: delay discounting processes. *Addiction.* 2001;96:73-86. PMID: [11177521](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11177521/)
23. Barassi N, Benavides F, Ceccarelli A. Ética en el uso de animales de experimentación. *Rev. Medicina.* Buenos Aires. 1996 [acceso: 17/12/2021]; 56(1). Disponible en: <http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol56-96/5/animalesdexp.htm>



24. Lecca N. Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso liofilizado de *Abutas rufescens* A. en ratas con diabetes mellitus. inducidas con estreptozotocina. ESSALUD. 2004. [acceso: 17/12/2021] [acceso: 17/12/2021]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/54210806.pdf>
25. Davolio S, Elías A, Prchal A, Sosa N, Mercau G. Consumo de edulcorantes e índice de aprendizaje en un modelo experimental. Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. 2009. [acceso: 17/12/2021]. Disponible en: http://www.conganat.org/10congreso/trabajo.asp?id_trabajo=1752&tipo=4
26. Perú. Ley 30407 “Ley de protección y bienestar animal”; 2015 [acceso: 17/12/2021]. Disponible en: <https://busquedas.elperuano.pe/normaslegales/ley-de-proteccion-y-bienestar-animal-ley-n-30407-1331474-1/>
27. Barrera A. Modelo de cognición espacial y navegación en ratas para controlar a un robot móvil autónomo. [Tesis]. Universidad Nacional Autónoma de México; 2007. [acceso: 17/12/2021]. Disponible en: <ftp://revistafal.com/pub/alfredo/ABarrera/Tesis-ABarrera-Paralmpresion.pdf>
28. McEwen BS. Sex, estrés and the hippocampus: allostasis, allostatic load and the aging process. *Neurobiol Aging*. 2002;23(5):921-39. PMID: [12392796](#)
29. Craig AD. A new view of pain as a homeostatic emotion. *Trends Neurosci*. 2003;26(6):303-7. PMID: [12798599](#)
30. Laborit H. The major mechanisms of stress. *Methods Achiev Exp Pathol*. 1991;15:1-26. PMID: [1762547](#)
31. García Sáez JA. ¿Pueden los animales ser titulares de derechos? Algunos argumentos desde una teoría garantista del Derecho. *Revista Catalana de Dret Ambiental*. 2012 [acceso: 17/12/2021]; 3(2):1-23. Disponible en: <https://raco.cat/index.php/rcda/article/view/318482>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Davis Alberto Mejía Pinedo: análisis formal, curaduría de datos, metodología.

Juan Luis Rodríguez Vega: conceptualización, análisis formal, metodología.



Este material es publicado según los términos de la Licencia Creative Commons Atribución–NoComercial 4.0. Se permite el uso, distribución y reproducción no comerciales y sin restricciones en cualquier medio, siempre que sea debidamente citada la fuente primaria de publicación.

Jorge Luis Campos Reyna: análisis formal, curaduría de datos, metodología.

José Elías Cabrejo Paredes: análisis formal, curaduría de datos, metodología.

Miryam Griselda Lora Loza: análisis formal, curaduría de datos, metodología.



Este material es publicado según los términos de la Licencia Creative Commons Atribución–NoComercial 4.0. Se permite el uso, distribución y reproducción no comerciales y sin restricciones en cualquier medio, siempre que sea debidamente citada la fuente primaria de publicación.