Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Psicología

Unidad de Posgrado

Comorbilidades de Memoria Espacial y de Reconocimiento Asociadas a un Modelo Experimental de Epilepsia y Efecto Neuroprotector de un Nuevo Tratamiento - Cusco 2024

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Psicología con mención en Psicología Clínica y de la Salud

AUTOR

Rodrigo Jhampier CACERES ROBLES

ASESOR

Mg. José Moisés CHÁVEZ ZAMORA

Lima, Perú

2026



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Caceres, R. (2026). *Comorbilidades de Memoria Espacial y de Reconocimiento Asociadas a un Modelo Experimental de Epilepsia y Efecto Neuroprotector de un Nuevo Tratamiento - Cusco 2024*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Psicología, Unidad de Posgrado]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Rodrigo Jhampier Caceres Robles
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	71980898
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0004-5014-6582
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Mg. José Moisés Chávez Zamora
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	08703517
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-8060-8600
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Mg. Abel Cuzcano Zapata
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06037280
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Dr. Ricardo Celso Canales Gabriel
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	25462089
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Mg. Juan Carlos Huarancca Mallqui
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10530195
Datos de investigación	
Línea de investigación	No aplica.
Grupo de investigación	No aplica.

Agencia de financiamiento	Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados – PROCIENCIA N.º de contrato: PE501082200-2023
Ubicación geográfica de la investigación	País: Perú Departamento: Cusco Provincia: Cusco Distrito: San Jerónimo Calle: Carretera Longitudinal de la Sierra Sur (bioterio de la Universidad Andina del Cusco) Latitud: -13.55105 Longitud: -71.86430
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2024
URL de disciplinas OCDE	Psicología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#5.01.00

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DÉCANA DE AMÈRICA)

FACULTAD DE PSICOLOGÌA

Av. Germán Amezaga n.° 375–Ciudad Universitaria-Teléfono: 6197000-3208

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS DE GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN PSICOLOGÍA

Siendo las 15:00 horas del día viernes 21 de agosto de 2026, en el Auditorio "Raúl González Moreyra" de la Facultad de Psicología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Ciudad Universitaria, Av. Germán Amezaga n.° 375 Lima), el Jurado Examinador de Tesis presidido por la Mg. Abel Cuzcano Zapata e integrado por:

Mg. Abel Cuzcano Zapata	*(Presidente)*
Mg. José Moisés Chávez Zamora	*(Asesor)*
Dr. Ricardo Celso Canales Gabriel	*(Informante)*
Mg. Juan Carlos Huarancca Mallqui	*(Informante)*

Se reunió para la sustentación pública para optar el Grado Académico de Magíster en Psicología con mención en Psicología Clínica y de la Salud del **Bachiller RODRIGO JHAMPIER CACERES ROBLES** quien procedió a la exposición de la Tesis titulada ***Comorbilidades de Memoria Espacial y de Reconocimiento Asociadas a un Modelo Experimental de Epilepsia y Efecto Neuroprotector de un Nuevo Tratamiento - Cusco 2024,*** *presentado,* con el fin de optar el Grado Académico de **MAGÍSTER EN PSICOLOGÍA** con mención en Psicología Clínica y de la Salud.

Concluida la exposición, se procedió a la calificación correspondiente, de acuerdo con la Escala de Calificación del Reglamento para el otorgamiento del Grado Académico de Magíster, obteniendo la siguiente calificación.

B MUY BUENO 17 (DIECISIETE)

A continuación el Presidente del Jurado Examinador recomienda que la Facultad de Psicología acuerde otorgar el Grado Académico de:

MAGÍSTER EN PSICOLOGÍA con mención en Psicología Clínica y de la Salud

Se extiende la presente ACTA a las 4.10 del 21 de agosto de 2026.

Mg. Abel Cuzcano Zapata
Presidente

Mg. José Moisés Chávez Zamora
Asesor

Dr. Ricardo Celso Canales Gabriel
Informante

Mg. Juan Carlos Huarancca Mallqui
Informante

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE
SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

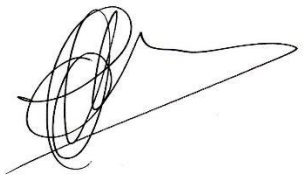
Anexo 1

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, José Moisés Chávez Zamora en mi condición de asesor acreditado mediante Resolución Decanal N° RD N° 000423 – 2025- D – FPSI/UNMSM de la tesis cuyo título es Comorbilidades de memoria espacial y de reconocimiento asociadas a un modelo experimental de epilepsia y efecto neuroprotector de un nuevo tratamiento - Cusco 2024, presentado por el bachiller Rodrigo Jhampier Caceres Robles para optar el Grado Académico de Magíster en Psicología con mención en Psicología Clínica y de la Salud, CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 3% de similitud, nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del Grado Académico de Magíster en Psicología con mención en Psicología Clínica y de la Salud.

Lima, 17 de octubre de 2026



José Moisés Chávez Zamora
DNI: 08703517

Dedicatoria

A Karl Marx, el científico más grande de la historia

Agradecimiento

El presente trabajo forma parte del proyecto financiado con fondos de inversión del Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados – PRO-CIENCIA con Nro. Contrato PE501082200-2023

Resumen

El deterioro de la memoria es una comorbilidad frecuente de la epilepsia del lóbulo temporal cuyo tratamiento sigue siendo un reto. Este estudio evaluó si la macamida (MCH02), un inhibidor de la FAAH derivado de la maca (*Lepidium meyenii*), protege frente al deterioro de memoria asociado a un modelo de epilepsia por kindling con pentilentetrazol (PTZ) en ratas. Ratas macho Sprague-Dawley se asignaron a cuatro grupos (vehículo o macamida, con o sin PTZ; n = 7–8) y se evaluaron con la prueba de reconocimiento de objetos novedosos (NOR) y el laberinto de Barnes; las conductas se cuantificaron con DeepLabCut (un método de *deep learning* para la estimación de poses) y SimBA, y se analizaron mediante estimación bayesiana. El grupo del modelo sin tratamiento mostró un deterioro creíble del reconocimiento (índice de discriminación por debajo del azar), mientras que ambos grupos tratados con macamida se ubicaron por encima del azar; no hubo deterioro espacial en el laberinto de Barnes ni efecto sobre la epileptogénesis. Se configura así una disociación: el modelo comprometió selectivamente el reconocimiento de objetos (corteza perirrinal) y respetó la memoria espacial (hipocampo), y la macamida protegió específicamente el dominio vulnerable.

Palabras clave: epilepsia, memoria de reconocimiento, macamida, sistema endocannabinoide, kindling, neuroprotección.

Abstract

Memory impairment is a common comorbidity of temporal lobe epilepsy whose treatment remains a challenge. This study assessed whether macamide (MCH02), a FAAH inhibitor derived from maca (*Lepidium meyenii*), protects against the memory impairment associated with a pentylenetetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy in rats. Male Sprague-Dawley rats were assigned to four groups (vehicle or macamide, with or without PTZ; n = 7–8) and assessed with the novel object recognition (NOR) test and the Barnes maze; behaviors were quantified with DeepLabCut (deep learning for pose estimation) and SimBA, and analyzed using Bayesian estimation. The untreated model group showed a credible impairment of recognition (discrimination index below chance), whereas both macamide-treated groups were above chance; there was no spatial impairment in the Barnes maze and no effect on epileptogenesis. This constitutes a dissociation: the model selectively compromised object recognition (perirhinal cortex) while sparing spatial memory (hippocampus), and macamide specifically protected the vulnerable domain.

Keywords: epilepsy, recognition memory, macamide, endocannabinoid system, kindling, neuroprotection.

Índice general

1 INTRODUCCIÓN **1**

1.1 Situación problemática 1

1.2 Formulación del problema 9

1.2.1 Problema general 10

1.2.2 Problemas específicos 10

1.3 Justificación 10

1.4 Objetivos 11

1.4.1 Objetivo general 11

1.4.2 Objetivos específicos 11

2 MARCO TEÓRICO **14**

2.1 Marco filosófico epistemológico 14

2.1.1 Recuento histórico de las variables de estudio 18

2.1.1.1 Memoria espacial 19

2.1.1.2 Memoria de reconocimiento 20

2.1.1.3 Modelos de kindling y kindling por pentilentetrazol . . 20

2.1.1.4 Macamidas 22

2.2 Antecedentes 23

2.3 Bases teóricas 25

2.3.1 Mecanismos de memoria y su deterioro 25

2.3.1.1 Sistemas de memoria 25

2.3.1.2 Mecanismos básicos de memoria 28
2.3.1.3 Mecanismos de memorias explícitas 32
2.3.1.4 Memoria espacial 34
2.3.1.5 Estudio experimental de la memoria espacial 34
2.3.1.6 Prueba del laberinto de Barnes y su validez 35
2.3.1.7 Memoria de reconocimiento 37
2.3.1.8 Estudio experimental de la memoria de reconocimiento 39
2.3.1.9 Prueba de reconocimiento de objetos novedosos y su validez 40
2.3.1.10 Deterioro cognitivo asociado a la epilepsia 42
2.3.2 La relación estrecha entre la potenciación a largo plazo, memoria y epilepsia 46
2.3.3 Factores del deterioro cognitivo en epilepsia 48
2.3.3.1 Deterioro específico del síndrome epiléptico 48
2.3.3.2 Factores individuales 49
2.3.4 Sistema endocannabinoide (SEC) 50
2.3.4.1 Sistema endocannabinoide y epilepsia 52
2.3.4.2 Macamidas 54
2.3.4.3 Sistema endocannabinoide y memoria 55
2.3.5 Modelos animales de epilepsia y comorbilidades cognitivas . . 56
2.3.6 Modelo de kindling por pentilentetrazol 58
2.3.6.1 Validez del modelo de kindling por pentilentetrazol . . 62

2.3.7 Enfoques basados en deep learning para el estudio de la conducta 64
2.3.7.1 DeepLabCut 65
2.3.7.2 SimBA 67
2.4 Planteamiento de hipótesis 68
2.4.1 Hipótesis general 68
2.4.2 Hipótesis específicas 68

3 METODOLOGÍA 69

3.1 Diseño experimental 69
3.1.1 Tipo y diseño de investigación 69
3.1.2 Unidad de análisis 69
3.1.3 Cálculo de muestra 70
3.2 Generación de modelo de epilepsia del lóbulo temporal 75
3.2.1 Modelo de kindling por pentilentetrazol 75
3.3 Tratamientos experimentales 77
3.3.1 Habituación 77
3.3.2 PTZ challenge 77
3.3.3 Kindling por pentilentetrazol 78
3.3.4 Tratamiento con macamida 78
3.3.5 Evaluación con la escala de Racine 79
3.3.6 Inyecciones de vehículo (PEG-DMSO) y solución salina 81
3.4 Evaluaciones comportamentales 81
3.4.1 Pruebas piloto y estandarización 81
3.4.2 Prueba de reconocimiento de objetos novedosos 82

3.4.3 Prueba del laberinto de Barnes 85
3.5 Análisis comportamental 88
3.6 Análisis estadístico 93
3.7 Control de variables de confusión 97

4 RESULTADOS **100**

4.1 La administración de macamida no modifica de forma concluyente la velocidad de adquisición del kindling 100
4.2 El índice de reconocimiento es menor en el grupo VEH+PTZ y se conserva en los grupos tratados con macamida 102
4.3 No se observan diferencias concluyentes entre los grupos en el aprendizaje espacial 108
4.3.1 Parámetros complementarios del laberinto de Barnes 117

5 DISCUSIÓN **122**

5.1 Disociación entre memoria de reconocimiento y memoria espacial . . 122
5.1.1 Vulnerabilidad diferencial de la corteza perirrinal y el hipocampo en el kindling por PTZ 127
5.1.2 El reconocimiento deteriorado frente a la memoria espacial preservada 132
5.2 El efecto protector de la macamida sobre la memoria de reconocimiento 135
5.3 La macamida y la epileptogénesis 140
5.4 Consideraciones metodológicas 142
5.5 Limitaciones 144

6 CONCLUSIONES **146**

6.1 Impacto del modelo sobre la memoria 146

6.2 Efecto de la macamida sobre el reconocimiento 146

6.3 Efecto de la macamida sobre la memoria espacial 147

6.4 Efecto sobre la epileptogénesis 147

6.5 Objetivo general 148

6.6 Aporte metodológico 148

7 RECOMENDACIONES **149**

8 DISPONIBILIDAD DE DATOS **151**

9 BIBLIOGRAFÍA **152**

Apéndice A: Protocolo de la prueba de reconocimiento del objeto novedoso **184**

Apéndice B: Protocolo de la prueba del laberinto de Barnes **189**

Apéndice C: Procedimiento detallado de análisis de DeepLabCut y SimBA **195**

Apéndice D: Verificación de supuestos estadísticos **221**

Apéndice E: Análisis complementario bajo el marco frecuentista **225**

Apéndice F: Salida de los ajustes de los modelos **230**

Índice de figuras

1 Correspondencia entre la localización del foco epileptógeno y su principal comorbilidad cognitiva 5

2 Resumen gráfico del estudio 12

3 Niveles de explicación de la memoria y de su deterioro en la epilepsia 16

4 Conservación del hipocampo en diferentes especies 18

5 Sistemas de memoria y paradigmas experimentales asociados 26

6 Modelo contemporáneo de dos sistemas de memoria humana 28

7 Potenciación a largo plazo en el hipocampo 32

8 Esclerosis hipocampal en pacientes con epilepsia 45

9 Densidad de localización de receptores CB1 en zonas del hipocampo 51

10 Efectos del kindling por PTZ en el daño neuronal en el hipocampo . . 61

11 Comparación de la actividad ictal entre el modelo de PTZ y un paciente con epilepsia del lóbulo temporal 62

12 Relaciones causales entre las variables del estudio 68

13 Esquema de diseño experimental con manipulaciones por grupo . . . 69

14 Resumen de procedimientos experimentales 76

15 Manifestaciones comportamentales de la escala de Racine 79

16 Monitoreo y grabación de manifestaciones comportamentales 80

17 Esquema de la prueba NOR. 83

18 Esquema del aparato del laberinto de Barnes 85

19 Detalle de la detección de partes corporales mediante DeepLabCut en videos de la prueba 88
20 Proceso de etiquetado en la interfaz gráfica de DeepLabCut (Prueba NOR) 90
21 Ejemplo que muestra los resultados de la interpolación de trayectorias con DLCAnalyzer 91
22 Definición de regiones de interés en SimBA (Laberinto de Barnes). . . 92
23 Análisis de regiones de interés en SimBA (Prueba NOR) 92
24 Análisis de regiones de interés en SimBA (Laberinto de Barnes) . . . 92
25 Control de variables de confusión 97
26 Curvas de Kaplan-Meier para los grupos experimentales sometidos a kindling 100
27 Puntajes promedio de Racine para los grupos experimentales sometidos a kindling 101
28 Índice de reconocimiento de la prueba NOR por grupo 102
29 Evaluación posterior predictiva del índice de reconocimiento 103
30 Medianas posteriores e intervalos HPD (95%) del índice de reconocimiento por grupo 103
31 Contrastes pareados del índice de reconocimiento (modelo Beta) . . . 104
32 Índice de reconocimiento por grupo con los contrastes creíbles señalados 105
33 Velocidad media por grupo en el día de la prueba NOR 106
34 Distancia total recorrida por grupo en el día de la prueba NOR 107

35 Evaluación posterior predictiva de los parámetros complementarios de la prueba NOR 107
36 Latencias en la prueba del laberinto de Barnes 111
37 Evaluación posterior predictiva de la latencia en la prueba del laberinto de Barnes 111
38 Errores en la prueba del laberinto de Barnes 114
39 Evaluación posterior predictiva de la variable errores 115
40 Estrategias empleadas en el laberinto de Barnes 116
41 Distancia total recorrida en la prueba del laberinto de Barnes 119
42 Velocidad media en la prueba del laberinto de Barnes 119
43 Evaluación posterior predictiva de las variables distancia recorrida y velocidad media 120
44 Mapa de las regiones cerebrales límbicas y sus características convulsivas en vista lateral 128

Índice de tablas

1 Tamaños de efecto encontrados en la literatura para el laberinto de Barnes 70

2 Tamaños de efecto encontrados en la literatura para la prueba NOR . 73

3 Resultados de los análisis de potencia estadística, por prueba 75

4 Modelos usados en el análisis (notación de Wilkinson) 95

5 Resumen de estadísticos descriptivos del índice de reconocimiento, por grupo 102

6 Resumen de estadísticos descriptivos de los parámetros complementarios de la prueba NOR, por grupo 106

7 Resumen de estadísticos descriptivos de latencias de la prueba del laberinto de Barnes 108

8 Resumen de estadísticos descriptivos de errores de la prueba del laberinto de Barnes 112

9 Resumen de estadísticos descriptivos de parámetros complementarios de la prueba del laberinto de Barnes 117

Índice de fórmulas

1 Tamaño de efecto η^2 a partir del estadístico F 70

2 d de Cohen a partir del estadístico t 73

3 Conversión de la d a la f de Cohen 75

4 Índice de reconocimiento de la prueba NOR 84

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Situación problemática

Una crisis epiléptica es la aparición transitoria de signos o síntomas debidos a una actividad neuronal excesiva y sincrónica en el cerebro. La epilepsia, por su parte, es un trastorno cerebral caracterizado por una predisposición duradera a generar crisis epilépticas y por las consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales de esta condición, y su definición requiere la ocurrencia de al menos dos crisis epilépticas, o una crisis epiléptica sumada a una alta probabilidad de tener otra (Fisher et al., 2014). Bajo esta etiqueta general se agrupa un conjunto heterogéneo de condiciones neurológicas (los síndromes epilépticos) que comparten la presencia de crisis epilépticas recurrentes, pero difieren en su etiología, la cual incluye lesiones cerebrales, infecciones, trastornos metabólicos, tumores cerebrales, origen genético y, en otros casos, una evaluación diagnóstica que no logra establecer su origen (epilepsia idiopática).

El pronóstico también es heterogéneo: aunque una parte de los casos remite espontáneamente o responde favorablemente a los fármacos anticrisis disponibles, una proporción relevante desarrolla formas resistentes a estos que llegan a requerir procedimientos invasivos, como cirugías cerebrales. Es precisamente esta fracción refractaria, que escapa al control terapéutico y concentra la mayor carga de la enfermedad, la que motiva la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento.

La relevancia de la epilepsia, sin embargo, no radica solo en esa gravedad variable, sino también en su magnitud como problema de salud a escala poblacional. A

nivel mundial, el número de individuos con epilepsia en estado activo se ha calculado en 45.9 millones. De estos, 24,0 millones padecerían de epilepsia idiopática. La prevalencia es significativamente mayor en países de renta baja (Beghi et al., 2019)

Según un estudio epidemiológico, en países latinoamericanos se estima que 6,3 millones de personas viven con la condición. Pero esta prevalencia regional, en contraste con la tendencia mundial que se encuentra en los últimos treinta años en descenso, se ha mantenido (Pacheco-Barrios et al., 2022), hecho que los autores atribuyen a la continuada falta de acceso a atención médica oportuna.

Más allá de la prevalencia, el impacto de la enfermedad se aprecia mejor mediante los años de vida ajustados por discapacidad (AVAD), un índice que resume en una sola cifra los años perdidos por muerte prematura y los años vividos con discapacidad (Anaya, 2015). Medida así, la carga de la epilepsia es considerable: a nivel mundial representa cerca del 5 % de los años perdidos por trastornos neurológicos, lo que la sitúa en el quinto lugar entre ellos, solo por detrás de los accidentes cerebrovasculares, las migrañas, la demencia y la meningitis (Beghi et al., 2019).

En cuanto al contexto nacional, no se encuentran datos epidemiológicos disponibles pertinentes a la población general, aunque existen estudios a nivel de establecimientos de salud enfocados en pacientes en general (Maldonado et al., 2010) o en poblaciones específicas (Segovia-Sánchez et al., 2022), esta información podría no ser suficiente para tener un panorama completo.

En dos notas de prensa recientes, instituciones del gobierno peruano (Ministerio de Salud, 2024, y Consejo Nacional para la Integración de la Persona con Dis-

capacidad, 2021) establecieron la prevalencia de 1.19 a 3.21 casos por 100 000 personas, en la medida convencional y estimaron en 150 000 los pacientes que padecerían de epilepsia farmacoresistente (30% de los pacientes). Sin embargo este estimado parece no ser confiable, o en el mejor de los casos sería conservador, por las siguientes razones: La única nota de las dos que se encuentra referenciada (la del Conadis) cita un artículo (Burneo et al., 2017) cuyo objetivo primario es hacer un recuento de colaboración interinstitucional para llevar a cabo cirugías para el tratamiento de la epilepsia y menciona dicha estimación para poner en contexto dicho recuento. Sin embargo este sí referencia un estudio epidemiológico cuyo interés primario es estimar la prevalencia de la enfermedad en latinoamerica (Burneo et al., 2005). Este a su vez, en su metodología, detalla una diversidad fuentes para diferentes países, siendo en el caso del Perú la única fuente usada un estudio que data de 1994, encargado por el Instituto Peruano de Seguridad Social (institución que pasó a ser Essalud a partir de 1999), lo cual es problemático, puesto que este estudio hizo la recogida de datos en 1992, mediante auto-reporte en escolares en tres distritos de Lima. Dicho estudio incluso comenta sobre estas limitaciones (Instituto Peruano de Seguridad Social et al., 1994), para brindar finalmente un estimado general de 1.19 (debe notarse aquí que no se menciona el intervalo 1.19 a 3.21) por cada 100 000 personas para niños con epilepsia. Entonces en relación con la situación de la epilepsia a nivel nacional, y con base en la información disponible se puede inferir menos sobre la prevalencia exacta de la enfermedad en el tiempo reciente y más sobre el desinterés, de instituciones del gobierno y otras con capacidad para llevar a cabo estudios epidemiológicos nacionales, en tener un panorama completo de dicha enfermedad, trabajo necesario

para la adecuada asignación de recursos para su tratamiento e investigación.

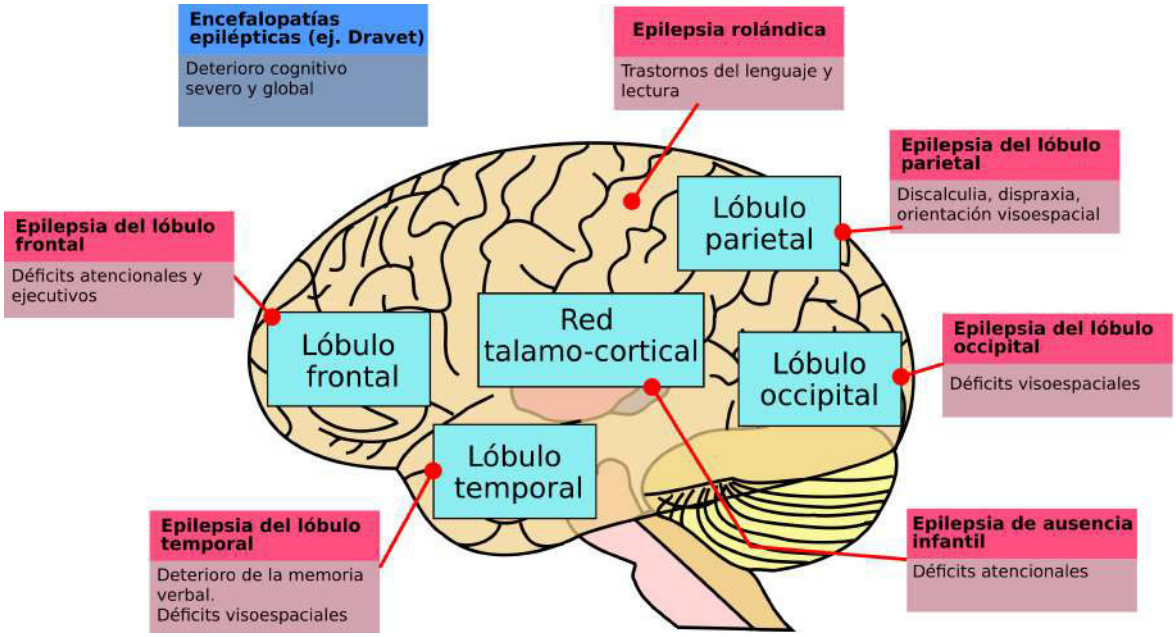
En el estudio de las comorbilidades de esta enfermedad, se ha encontrado que los pacientes de epilepsia padecen en una proporción significativamente mayor a la población general de enfermedades como desordenes del sistema muscular, trastornos digestivos, trastornos respiratorios, dolor crónico, accidentes cerebrovasculares, migraña, artritis, obesidad, diabetes, infecciones, fracturas y alergias (Seidenberg et al., 2009)

En cuanto a condiciones de salud mental, se ha observado una mayor frecuencia de depresión, ansiedad, trastornos del espectro autista y psicosis (Seidenberg et al., 2009; Tsai et al., 2013). De hecho, aproximadamente uno de cada tres pacientes con epilepsia presenta a lo largo de su vida algún diagnóstico psiquiátrico, con un riesgo de dos a cinco veces mayor que el de la población general (Mula et al., 2021). La depresión es la comorbilidad psiquiátrica más frecuente (con una prevalencia cercana al 23 % para el episodio actual y de hasta el 40 % a lo largo de la vida), mantiene con la epilepsia una relación bidireccional y se asocia a una peor respuesta al tratamiento y a un mayor riesgo de farmacorresistencia (Mula et al., 2021). Los trastornos de ansiedad afectan a alrededor del 20 % de los pacientes, mientras que la psicosis, aunque menos frecuente (en torno al 5-6 %), resulta notablemente más común en la epilepsia del lóbulo temporal (Lu et al., 2021). En conjunto, estas comorbilidades constituyen marcadores de mal pronóstico, pues se asocian a una peor respuesta a los tratamientos farmacológicos y quirúrgicos y a una mayor morbimortalidad (Mula et al., 2021). Por último, se ha asociado deterioro cognitivo a esta enfermedad. Estudios realizados en diferentes poblaciones y con diferentes metodologías difieren en la proporción en que se evidencia es-

ta comorbilidad. Se ubicó en 17% (Sorg et al., 2022, epilepsia infantil, evaluada a través de historias médicas electrónicas, muestra alemana), 69% (Asnakew et al., 2022, pacientes de todas las edades, medido a través de la prueba neuropsicológica de *screening* MINIMENTAL, muestra etíope) y 70-80% (Helmstaedter y Elger, 2009, pacientes con epilepsia del lóbulo temporal, empleo de neuroimagenes, muestra estadounidense).

Figura 1

Correspondencia entre la localización del foco epileptógeno y su principal comorbilidad cognitiva



Nota. El esquema resume, para las principales localizaciones y síndromes epilépticos, la comorbilidad cognitiva más característica. La epilepsia del lóbulo frontal se asocia a déficits atencionales y ejecutivos (Holmes, 2015); la del lóbulo parietal, a discalculia, dispraxia y alteraciones de la orientación visoespacial, y la del lóbulo occipital, a déficits visoespaciales (Santangelo et al., 2017; Knopman et al., 2014); la del lóbulo temporal, al deterioro de la memoria, sobre todo verbal (Helmstaedter, 2013; Bostock et al., 2017); la epilepsia rolándica, a trastornos del lenguaje y la lectura (Operto et al., 2023); la epilepsia de ausencia infantil (red tálamo-cortical), a déficits atencionales (Lenck-Santini y Scott, 2015; Landi et al., 2019); y las encefalopatías epilépticas (p. ej., síndrome de Dravet), a un deterioro cognitivo severo y global (Stafstrom y Kossoff, 2016; Nariai et al., 2018). Elaboración propia.

Un factor que podría explicar al menos parcialmente el alto grado de variabilidad del deterioro cognitivo sería la alta heterogeneidad de la enfermedad. Se origina

en diversas partes del cerebro, de manera localizada o difusa, y en el caso de las epilepsias focalizadas, las descargas eléctricas durante un ataque pueden o no transmitirse a otras zonas. Este hecho tiene consecuencias cognitivas directas: el perfil del deterioro no es uniforme, sino que se moldea según la localización del foco epileptógeno (además de la edad de inicio y de la gravedad del trastorno), de modo que los déficits no dependen únicamente de la frecuencia de las crisis, sino también de la etiología subyacente, de las descargas epileptiformes interictales, de la disrupción de las redes neuronales y de los efectos del tratamiento (Lenck-Santini y Scott, 2015). Así, cada tipo de epilepsia tiende a asociarse con un patrón característico (Figura 1): la epilepsia del lóbulo frontal se distingue por la disfunción ejecutiva, los déficits atencionales y las alteraciones de la sociabilidad. Las epilepsias de los lóbulos occipital y parietal comprometen predominantemente las funciones visuoespaciales y visuoconstructivas (Santangelo et al., 2017). Y finalmente la epilepsia del lóbulo temporal afecta sobre todo la memoria, con un patrón que depende de la lateralización del foco (deterioro de la memoria verbal en los focos izquierdos y de la memoria figural en los derechos) (Helmstaedter, 2013). Esta correspondencia entre la localización del foco y el dominio cognitivo afectado ilustra por qué el deterioro asociado a la epilepsia es tan variable.

Uno de los tipos de epilepsia focalizadas más comunes es la epilepsia del lóbulo temporal (en adelante ELT) (Engel y Salamon, 2015) y la mayoría de los pacientes que padecen de este tipo, padecen epilepsia del lóbulo temporal mesial, y esclerosis hipocampal.

La esclerosis hipocampal es la neuropatología más frecuente encontrada en pacientes con ELT (Blümcke et al., 2013), (Herlin, 2022) (Özkara y Aronica, 2012).

Sin embargo, la relación entre ambas es más bien problemática, y esta lesión se ha caracterizado tanto como una causa como una consecuencia de la ELT (Jefferys, 1999), (Özkara y Aronica, 2012)

El lóbulo temporal acoge la corteza auditiva primaria, las cortezas auditiva y visual secundarias, el sistema límbico, parte de la corteza olfatoria primaria, la amígdala y el hipocampo. El hipocampo, en conjunto con las cortezas implicadas en el reconocimiento de objetos, participa en la memoria y en la organización espacial de la información. Por tanto, es previsible que se hayan encontrado déficits en la memoria de trabajo y el lenguaje, pero también en funciones ejecutivas y aspectos de la cognición emocional como el reconocimiento de emociones en rostros (Zhao et al., 2014).

Lamentablemente, la epilepsia del lóbulo temporal también es el tipo de epilepsia focalizada que presenta más resistencia al tratamiento farmacológico con cerca del 30% de los pacientes progresando su enfermedad a una epilepsia fármaco resistente (Sheng et al., 2018).

El estudio de estas comorbilidades cognitivas, y la evaluación de posibles tratamientos, se apoyan en gran medida en modelos animales de epilepsia (en particular en roedores), que permiten un grado de control experimental e intervención inviable en pacientes humanos. Entre estos, el kindling por pentilentetrazol (PTZ) es un modelo químico crónico y no invasivo ampliamente utilizado para estudiar las comorbilidades cognitivas de la epilepsia (Wang et al., 2022).

El deterioro de la memoria asociado a la epilepsia, se evalúa en estos modelos animales mediante pruebas conductuales que aprovechan comportamientos espontáneos de los roedores. La memoria de reconocimiento suele estudiarse con la

prueba de reconocimiento de objetos novedosos (NOR), que se apoya en la preferencia innata por la novedad: un animal que recuerda un objeto familiar dedica más tiempo a explorar uno nuevo, de modo que el tiempo de exploración funciona como índice de reconocimiento (Ennaceur y Delacour, 1988; Antunes y Biala, 2012). La memoria espacial, por su parte, se evalúa con laberintos como el de Morris o el de Barnes, en los que el animal debe localizar una plataforma o un escape orientándose mediante señales visuales, y en los que se registra, por ejemplo, la latencia de escape a lo largo de ensayos repetidos (Guarino et al., 2024; Dyomina et al., 2023).

Por otro lado, la cuantificación de estas conductas ha dependido tradicionalmente de la puntuación manual por observadores (lenta y subjetiva) o de sistemas comerciales de seguimiento de alcance limitado. Sin embargo, los avances recientes en *deep learning* han transformado este proceso: herramientas como DeepLabCut permiten la estimación de poses sin marcadores (el rastreo automático de las partes del cuerpo del animal en el video mediante redes neuronales profundas), mientras que SimBA aprovecha esa información para clasificar y cuantificar de forma automática las conductas de interés (Mathis et al., 2018; Goodwin et al., 2024). En conjunto, estos métodos permiten una cuantificación objetiva, reproducible y de alto rendimiento del comportamiento motor, con una exactitud comparable a la de los observadores humanos (Sturman et al., 2020).

Es en el contexto de búsqueda de tratamientos que preserven las capacidades cognitivas, además de ser anticrisis o antiepileptogénicos, que se plantean nuevos tratamientos. Una alternativa potencial son las macamidas, un grupo de N-bencilamidas de ácidos grasos de cadena larga que se encuentran de forma exclu-

siva en la maca (*Lepidium meyenii*), planta cultivada en los Andes peruanos. Su principal mecanismo de acción neuroactiva consiste en la inhibición de la enzima amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH), responsable de degradar la anandamida (un endocannabinoide). Al inhibir la FAAH, las macamidas elevan la disponibilidad de anandamida y potencian de manera indirecta la señalización del sistema endocannabinoide, sin actuar como agonistas directos de sus receptores (Alasmari et al., 2019).

Este perfil ha motivado el estudio de sus efectos sobre la cognición y el estado de ánimo. En modelos animales, distintos bioactivos de la maca, entre ellos las macamidas, revierten déficits cognitivos (como los inducidos por escopolamina) y favorecen mecanismos neurotróficos, tales como el aumento del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en el hipocampo (Chakrovorty et al., 2023). En cuanto al estado de ánimo, la macamida sintética MCH1 mostró un efecto de tipo antidepresivo en ratones (una reducción del tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado, sin efectos ansiogénicos) asociado a la modulación del sistema endocannabinoide (con un aumento de la expresión del receptor CB1) y no a la vía dopaminérgica (Medina-Saldivar et al., 2024). En conjunto, esta evidencia respalda a las macamidas como candidatas plausibles para intervenir sobre las comorbilidades cognitivas y afectivas asociadas a la epilepsia.

1.2 Formulación del problema

La epilepsia afecta negativamente la memoria en los individuos que la padecen, lo que a su vez tiene un impacto en su calidad de vida, causado tanto por la condición como por comorbilidades asociadas. A pesar de la importancia de este último problema, existe una falta de comprensión clara de su naturaleza y su extensión,

así como de la eficacia de los tratamientos disponibles para mitigarlos. Entonces en el contexto de esta investigación deseamos buscar respuesta a los siguientes problemas

1.2.1 Problema general

i) ¿Existe un efecto neuroprotector producido por la administración de la macamida sintética en ratas sometidas a un modelo experimental de epilepsia basado en el kindling por pentilentetrazol que prevenga el deterioro de la memoria espacial y de la memoria de reconocimiento de objetos?

1.2.2 Problemas específicos

i) ¿Difiere significativamente el grupo control del grupo sometido al modelo de epilepsia en los puntajes de las pruebas de memoria?

ii) ¿Difiere significativamente el grupo sometido al modelo de epilepsia del grupo al que, además, se le administró una macamida sintética en los puntajes de las pruebas de memoria?

1.3 Justificación

El estudio de las comorbilidades neuropsicológicas asociadas a una enfermedad plantea grandes desafíos. Teóricamente, las comorbilidades no implican necesariamente una relación causal directa desde la enfermedad, y simplemente se refiere a la mayor probabilidad respecto a la población general de experimentar dicha condición. Dada la heterogeneidad de los síndromes epilépticos, las comorbilidades cognitivas asociadas pueden caracterizarse tanto como una causa como una consecuencia, como otro signo que forma parte del síndrome epiléptico, como condición que, al igual que el síndrome epiléptico, proviene de una causa común

o, finalmente, como condición independiente del síndrome epiléptico (Löscher y Stafstrom, 2023).

El diseño experimental del estudio y el método de modelo animal se justifica porque al momento de trabajar con pacientes humanos, nos encontramos con dificultades graves, siendo centrales factores de confusión como las cirugías cerebrales y los fármacos usados en el tratamiento de la epilepsia del lóbulo temporal, que son capaces de generar deterioro cognitivo por sí mismos. Un diseño que controle estos factores y tenga como sujetos seres humanos es imposible debido a cuestiones éticas.

Además, según un reporte de la OMS (World Health Organization, 2019), en cuanto a investigación sobre la epilepsia, tomando como medida el número de publicaciones por millón de personas, la región de Sudamérica (9.2) se encuentra muy por detrás de regiones como Norteamérica (188.3), Oceanía (99.0) y Europa (73.8), por lo cual, podría justificarse trabajos como este para aportar a los esfuerzos dirigidos a un problema que, como se comentó anterioriormente, no ha mostrado mejora significativa en la región en los últimos años.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Establecer si la macamida ejerce un efecto neuroprotector frente al deterioro de la memoria asociado al modelo experimental de epilepsia.

1.4.2 Objetivos específicos

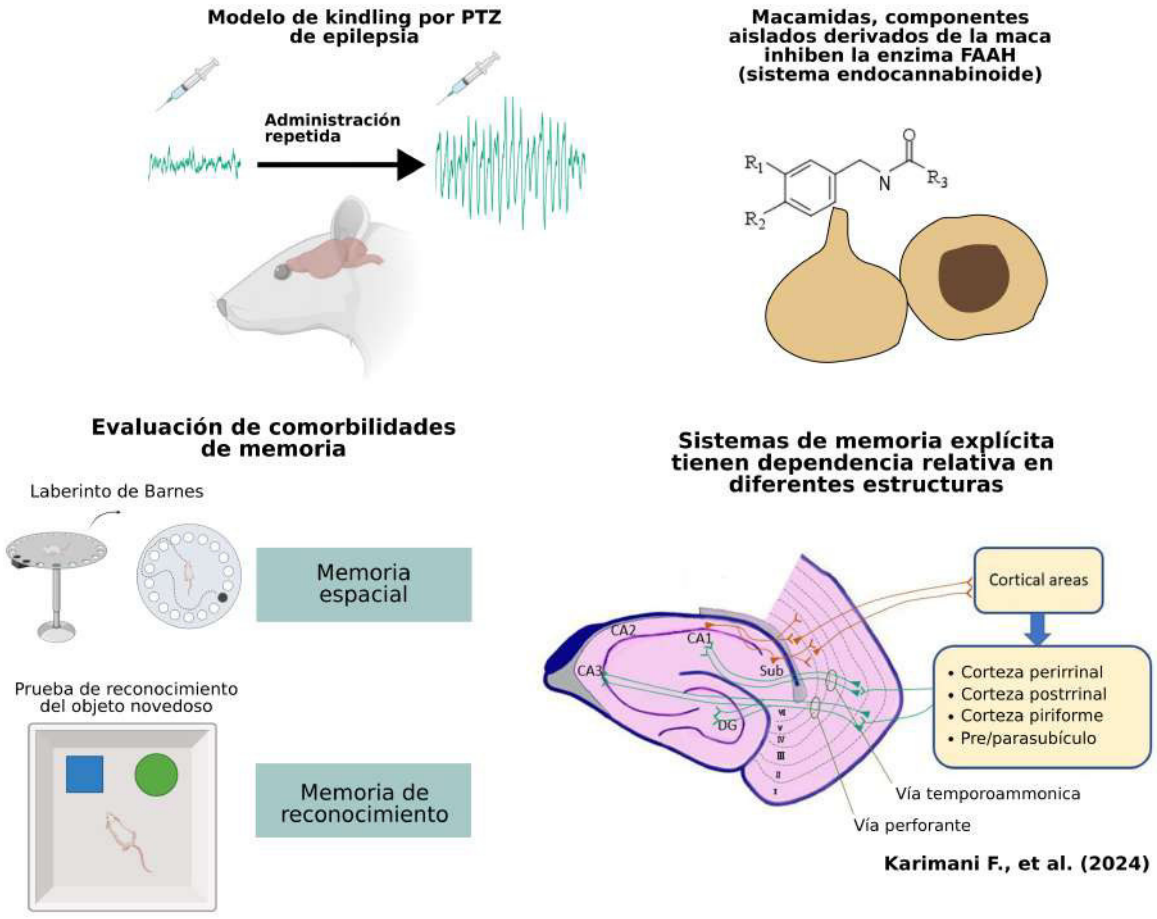
i. Establecer el impacto del modelo experimental de epilepsia sobre las comorbilidades en la memoria espacial y en el reconocimiento de objetos.

ii. Establecer si existe un efecto neuroprotector de la macamida expresado en diferencias significativas en la tarea de reconocimiento de objetos entre el grupo sometido al modelo experimental de epilepsia y el grupo que además de dicho modelo fue tratado con macamidas.

iii. Establecer si existe un efecto neuroprotector de la macamida expresado en diferencias significativas de puntajes en la tarea del laberinto de Barnes entre el grupo sometido al modelo experimental de epilepsia y el grupo que además de dicho modelo fue tratado con macamidas.

Figura 2

Resumen gráfico del estudio



Nota. Superior izquierda: modelo de epilepsia por kindling con pentilentetrazol (PTZ), en el que la administración repetida de dosis subconvulsivas incrementa de forma progresiva la excitabilidad. Superior derecha: las macamidas, componentes aislados de la maca, inhiben la enzima FAAH del sistema endocannabinoide. Inferior izquierda: evaluación de las

comorbilidades de memoria mediante el laberinto de Barnes (memoria espacial) y la prueba de reconocimiento del objeto novedoso (memoria de reconocimiento). Inferior derecha: los sistemas de memoria explícita dependen de forma diferencial de distintas estructuras del lóbulo temporal medial. Elaboración propia, salvo la imagen inferior derecha, adaptada de Karimani et al. (2024) (licencia CC BY).

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Marco filosófico epistemológico

Esta investigación está en el ámbito de la psicobiología, la cual estudia problemas y fenómenos psicológicos, pero de los cuales se asume que tienen explicación inmediatamente subyacente en mecanismos biológicos.

De acuerdo con Bunge y Ardila (2002), la psicobiología se basa en el supuesto general de que los procesos mentales son equivalentes a procesos cerebrales. Aunque a nivel ontológico esta afirmación es incomprobable, sus implicaciones a nivel metodológico han estimulado muchos trabajos de investigación en las últimas décadas que han aportado conocimiento y aplicaciones relevantes (como una mejor comprensión de fenómenos psicológicos básicos, y desarrollo de intervenciones tales como programas de rehabilitación en neuropsicología, o tratamientos farmacológicos para desordenes psiquiátricos).

Bajo el marco adoptado por dichos autores la psicobiología investiga mecanismos en el sentido particular que le dan a este término: La acción concreta de los agentes de un sistema. Sin embargo, nótese que la psicobiología no es el único enfoque de naturaleza explicativa de la problemática planteada en este trabajo. La epilepsia y el deterioro cognitivo asociado también pueden ser comprendidos y son susceptibles de ser intervenidos a un mayor nivel de complejidad, como el social. Por ejemplo, como se comentó en un capítulo anterior del presente trabajo, se ha reportado que en la región latinoamericana la prevalencia general de la epilepsia se ha mantenido constante en las últimas décadas, en contraste con regiones co-

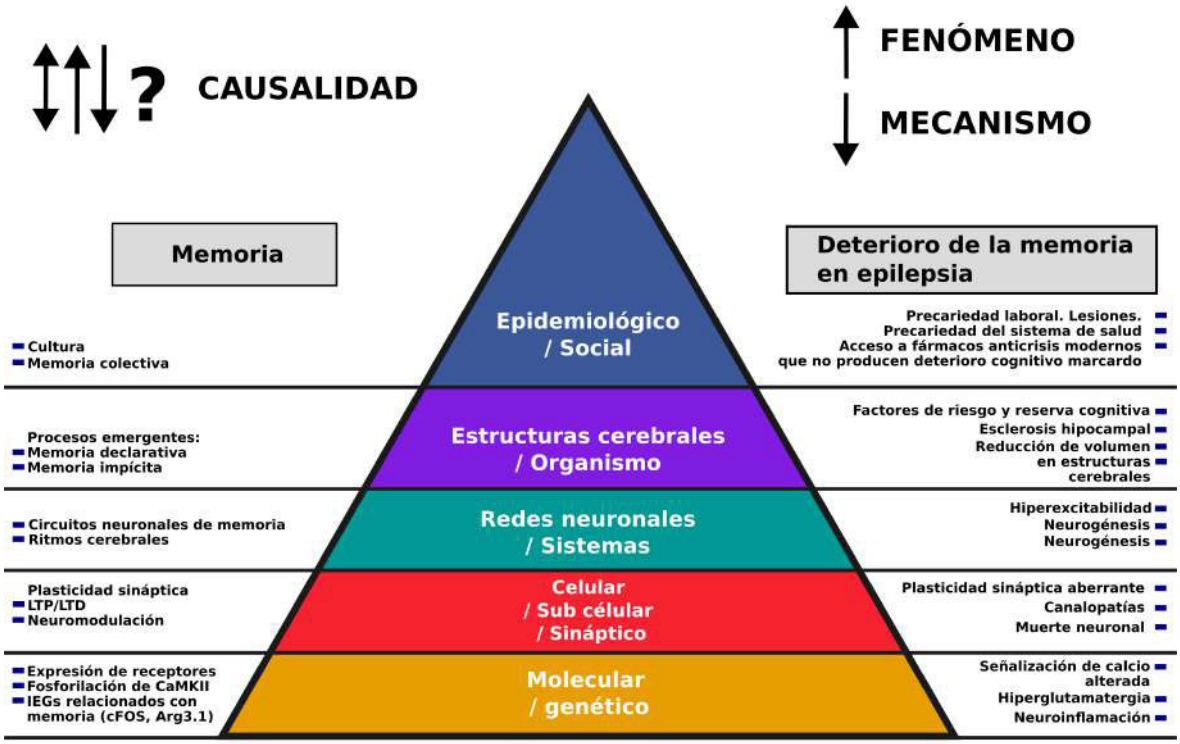
mo Europa que ha experimentado reducciones significativas (Pacheco-Barrios et al., 2022), hecho que ha sido explicado mediante las diferencias de disponibilidad de tratamientos y cobertura del sistema de salud que tienen las poblaciones de dichas regiones (determinantes sociales de la salud), y no con base en procesos cerebrales.

En cuanto a métodos, en este trabajo se usa un modelo animal con la pretensión de obtener conclusiones relevantes que, con evidencia adicional, se puedan extrapolar a sujetos humanos. Esto toma como base también otro supuesto más general, que es el de la similitud de estructuras cerebrales y, por tanto, de procesos cognitivos entre ciertos animales no humanos y humanos, como es el caso del hipocampo (véase Figura 4). Se trata entonces de un caso de cognición comparada, la cual en el fondo tiene su origen en principios de evolución de las especies (Halina, 2023): A) En principio rasgos cognitivos comunes entre especies convergen porque estas se enfrentan a problemas socio ecológicos comunes, como por ejemplo la necesidad de forrajeo en un medio similar; B) Especies poseen procesos cognitivos similares porque los heredaron de un antepasado común.

La psicobiología (el estudio de las bases biológicas de la conducta, la cognición y la afectividad) descansa sobre supuestos filosóficos que han evolucionado a lo largo de los siglos. Heredó sucesivas capas conceptuales: el dualismo ontológico cartesiano, el empirismo decimonónico y el neopositivismo del Círculo de Viena, que, a través del operacionalismo y del conductismo, definieron a la disciplina como ciencia experimental rigurosa pero estrecharon lo considerado evidencia legítima a la conducta observable (Gómez-Marín y Panksepp, 2011). La psicobiología contemporánea ha superado en gran medida ese marco y adopta una ontología

monista, en la que mente y cerebro no son sustancias separadas sino aspectos integrados de un mismo sistema (el modelo Cerebro-Mente de Panksepp [2011]), supuesto coherente con el adoptado en este trabajo (Bunge y Ardila, 2002) y que legitima el estudio de los procesos mentales a través de su realización neural. Ahora bien, esta base monista no equivale a un reduccionismo ingenuo. La neurociencia tiende a asumir que identificar mecanismos neurales (o establecer relaciones de necesidad y suficiencia mediante intervención) explica la conducta, sin embargo con esto se puede incurrir en una falacia de atribuir a las partes lo que corresponde al organismo como todo, y confunde la localización o la intervención con la explicación (Gomez-Marin). Una epistemología más adecuada integra múltiples niveles (molecular, neural, corporal, conductual y ambiental) y reconoce la causalidad circular entre el organismo y su entorno. De ahí que el nivel psicobiológico no agote la comprensión de la epilepsia y sus comorbilidades, que también admiten lecturas en niveles superiores (p. ej., social), sin que ello contradiga el enfoque aquí adoptado. La Figura 3 resume esta articulación de niveles, aplicada a la memoria y a su deterioro en la epilepsia.

Figura 3
Niveles de explicación de la memoria y de su deterioro en la epilepsia



Nota. Cada nivel de organización (de lo molecular-genético a lo epidemiológico-social) admite una lectura del fenómeno (columna derecha: el deterioro de la memoria en la epilepsia) y de su mecanismo, sin que la causalidad entre niveles quede reducida a una sola dirección. La columna izquierda señala los correlatos de la memoria en cada nivel. Elaboración propia.

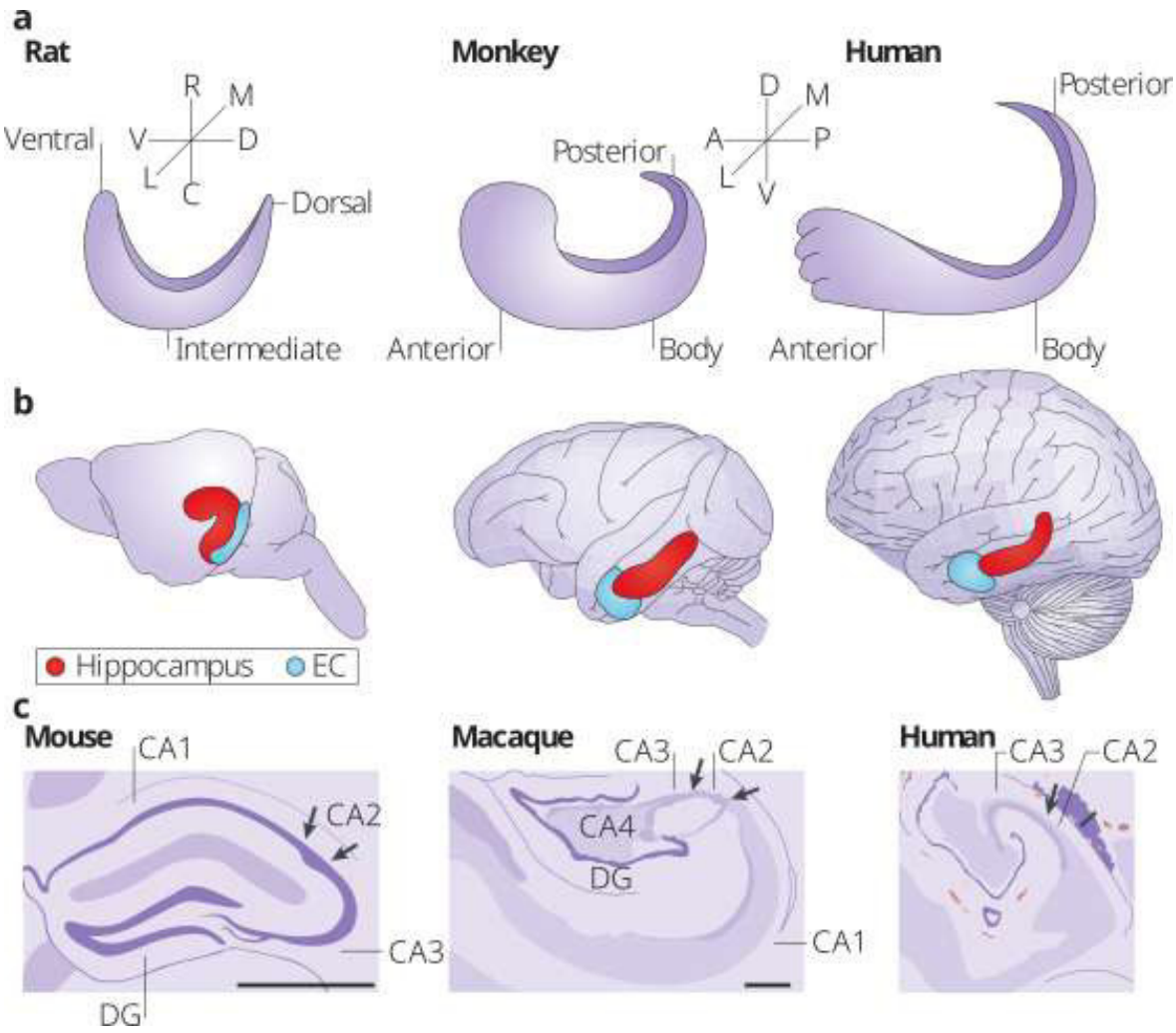
La elección de un modelo animal entonces se fundamenta en este contexto. Su justificación está en la notable conservación evolutiva de la organización neural entre mamíferos: microcircuitos y subtipos neuronales homólogos, y homologías funcionales como las células de lugar del hipocampo, documentadas en especies muy diversas (Barron et al., 2021; véase también la conservación de las estructuras hipocampales, Squire et al., 2014). Esta conservación justifica la extrapolación de hallazgos desde modelos animales hacia la función cerebral humana. A ello se suma que el modelo animal habilita métodos de medición e intervención causal (registros unicelulares, lesiones, manipulación química y genética) inviables en seres humanos por razones éticas y técnicas, sujetos siempre a una evaluación explícita de su validez aparente, de constructo y predictiva (van der Staay et al.,

2009). Este es, en cognición comparada (Halina, 2023), el fundamento epistemoló-

gico del diseño experimental del presente estudio.

Figura 4

Conservación del hipocampo en diferentes especies



Nota. Conservación del hipocampo y estructuras hipocampales en ratones, ratas, macacos y humanos. Reproducido de Squire et al. (2014) con permiso de Springer Nature. Licencia número 6014881199091 destinada a tesis o disertación, sin permisos de traducción.

2.1.1 Recuento histórico de las variables de estudio

Los principales constructos de este estudio (la macamida, el modelo de kindling por pentilentetrazol, la memoria espacial y la memoria de reconocimiento) no surgieron de un solo trabajo, sino que son el resultado de un desarrollo histórico en

el que diversos autores fueron precisando su definición hasta llegar a la comprensión que hoy se acepta, la cual constituye la base teórica del presente estudio. A continuación se ofrece un breve recuento histórico de cada uno.

2.1.1.1 Memoria espacial. El estudio científico de la memoria espacial tiene sus raíces conceptuales a mediados del siglo XX, con la hipótesis del mapa cognitivo de Tolman (1948), quien, frente al marco estímulo-respuesta del conductismo, sostuvo que las ratas que navegan laberintos construyen representaciones internas y globales del ambiente que les permiten una conducta flexible y dirigida a metas. Esta hipótesis, sin embargo, carecía inicialmente de evidencia fisiológica directa. El vínculo del hipocampo con la memoria se estableció a partir del célebre caso del paciente H.M., a quien se le extirpó bilateralmente el lóbulo temporal medial para tratar una epilepsia intratable. La amnesia anterógrada resultante, documentada por Scoville y Milner (1957), consolidó al complejo hipocampal como una estructura crítica para la formación de nuevas memorias. La evidencia neural que le faltaba a la teoría del mapa cognitivo llegó cuando O'Keefe y Dostrovsky (1971) descubrieron las células de lugar en el hipocampo de la rata, neuronas que se activan cuando el animal ocupa una posición específica del entorno. O'Keefe y Nadel (1978) integraron después esta evidencia conductual y fisiológica en su influyente propuesta del hipocampo como un mapa cognitivo que sustenta la navegación alocéntrica.

En el plano experimental, Morris (1981) introdujo el laberinto acuático que lleva su nombre, que se convirtió en la prueba estándar, dependiente del hipocampo, para evaluar el aprendizaje y la memoria espacial en roedores. El sistema espacial siguió precisándose con el descubrimiento de las células de red en la corteza en-

torrinal medial (Hafting et al., 2005), un segundo componente del código espacial cerebral, hallazgo que, junto con el de las células de lugar, fue reconocido con el Premio Nobel en 2014.

2.1.1.2 Memoria de reconocimiento. La memoria de reconocimiento, entendida como la capacidad de juzgar si un estímulo ha sido encontrado previamente, se desarrolló sobre todo desde la neuropsicología clínica y la psicología cognitiva. El mismo caso de H.M. fue fundacional, al mostrar que las lesiones del lóbulo temporal medial deterioran la formación de nuevas memorias declarativas (Scoville y Milner, 1957). En el terreno experimental con primates, Mishkin (1978) estableció el paradigma de discriminación retardada a la muestra (*delayed nonmatching-to-sample*), que permitió disociar las contribuciones del lóbulo temporal medial al reconocimiento de objetos.

Un avance metodológico decisivo para el estudio en roedores fue la prueba de reconocimiento de objetos novedosos de Ennaceur y Delacour (1988), un ensayo simple, de un solo intento, basado en la preferencia espontánea por la novedad. En el plano teórico, Brown y Aggleton (2001) precisaron la distinción entre familiaridad y recuerdo (*recollection*), vinculando la primera de forma más estrecha con la corteza perirrinal y el segundo con el hipocampo. Esta doble disociación se formalizó en el marco integrador del lóbulo temporal medial de Eichenbaum et al. (2007), que articuló el apoyo hipocampal al recuerdo y el apoyo perirrinal a la familiaridad, y que constituye la comprensión actual que sirve de base teórica a este trabajo.

2.1.1.3 Modelos de kindling y kindling por pentilentetrazol. El concepto de kindling como modelo de epileptogénesis fue descubierto de manera fortuita por Graham Goddard a finales de la década de 1960. Mientras realizaba experimentos

de estimulación eléctrica de la amígdala en ratas con el propósito inicial de estudiar la memoria, observó que la estimulación subumbral repetida de estructuras subcorticales producía un incremento progresivo y permanente de la susceptibilidad a las crisis epilépticas. Describió por primera vez este fenómeno en 1967 y lo desarrolló en un trabajo de referencia junto con McIntyre y Leech en 1969, denominándolo kindling (“encendido”) (Goddard, 1967; Goddard, McIntyre y Leech, 1969). El hallazgo central fue que una estimulación inicialmente insuficiente para provocar crisis conductuales llegaba, tras aplicaciones repetidas, a inducir de forma fiable crisis tónico-clónicas generalizadas, y que ese estado, una vez alcanzado, persistía de manera indefinida.

El procedimiento eléctrico clásico consiste en implantar electrodos en una estructura objetivo (con mayor frecuencia la amígdala) y aplicar estimulaciones focales repetidas que generan una posdescarga que crece en amplitud y complejidad a lo largo de los ensayos. Un aspecto conceptualmente decisivo es que el kindling resulta de la activación neuronal por lo que se entiende como una forma de plasticidad neural patológica que produce alteraciones permanentes del circuito. Para cuantificar la gravedad de las crisis, Racine (1972) desarrolló una escala conductual de cinco estadios (desde movimientos faciales hasta el enderezamiento con caída) que se convirtió en el estándar del campo y que aún hoy se emplea, con diversas modificaciones. Con el tiempo se desarrollaron variantes del modelo, como el kindling hipocampal, el rápido y el corneal.

Aunque el kindling eléctrico fue durante décadas el modelo de referencia, la necesidad de aproximaciones más sencillas y accesibles impulsó el desarrollo del kindling químico, entre cuyas variantes el kindling por pentilentetrazol (PTZ) se

convirtió en la más utilizada. El PTZ es un antagonista del receptor GABA-A que, al suprimir la transmisión inhibitoria, aumenta la excitabilidad neuronal (Monteiro et al., 2024). Mientras que una dosis alta única induce crisis agudas, el paradigma de kindling aprovecha la administración repetida de dosis subconvulsivas para reproducir la escalada progresiva característica del kindling eléctrico, pero sin necesidad de cirugía intracraneal ni de equipamiento de estimulación. Es este modelo, el kindling por PTZ, el que se emplea en el presente trabajo.

2.1.1.4 Macamidas. Las macamidas fueron aisladas y caracterizadas a comienzos de la década de 2000 (la primera referencia en la literatura con esta denominación que se puede encontrar en la base de datos Scopus fue hecha en el estudio de Muhammad et al., [2002] que describió el aislamiento de una macamida), cuando se describieron nuevas alcamidas de la maca (*Lepidium meyenii*) y se desarrollaron los primeros métodos analíticos para su detección. Se definieron químicamente como N-bencilamidas de ácidos grasos de cadena larga, una estructura que no se ha hallado en ninguna otra especie vegetal, por lo que se consideran marcadores químicos característicos de la maca. A la fecha se han identificado una gran diversidad de macamidas con propiedades bioquímicas de similar diversidad (Nicoara et al., 2025).

El interés farmacológico inicial surgió de los usos tradicionales de la maca como alimento para aumentar la energía y la fertilidad en los Andes peruanos, usos que la investigación experimental validó al asociar sus metabolitos secundarios con mejoras en la función sexual y reproductiva y con efectos antifatiga y antioxidantes (Malík y Tlustoš, 2023).

Un hito importante fue la caracterización de las macamidas como inhibidoras de

la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH), la enzima que degrada la anandamida: Wu et al. (2013) sintetizaron y evaluaron sistemáticamente once macamidas y sus análogos, y mostraron que la insaturación de la cadena grasa se correlaciona con una mayor actividad inhibidora. Este hallazgo redefinió a las macamidas como agentes potenciadores del sistema endocannabinoide, capaces de elevar de forma indirecta la anandamida, y orientó su estudio hacia el sistema nervioso (Nicoara et al., 2025).

Sobre esta base, la investigación se dirigió a sus efectos en el cerebro. Se documentaron propiedades neuroprotectoras y, con la macamida sintética MCH1, un efecto de tipo antidepresivo mediado por la señalización endocannabinoide (Medina-Saldivar et al., 2024). La aplicación más reciente concierne a su potencial anticonvulsivo: dado que la inhibición de la FAAH eleva la anandamida y puede atenuar la hiperexcitabilidad a través de los receptores CB1, y que los inhibidores de FAAH restauran la plasticidad sináptica alterada por la actividad convulsiva sin el deterioro mnésico propio de los agonistas directos de CB1, las macamidas se perfilan hoy como candidatas para el tratamiento de la epilepsia y sus comorbilidades (Colangeli et al., 2017).

2.2 Antecedentes

En cuanto a los antecedentes empíricos directamente relacionados con la variable de tratamiento del presente estudio, la investigación sobre los efectos conductuales de las macamidas y de la maca sobre la memoria y el estado de ánimo, aunque aún incipiente, ofrece algunos referentes.

Castro García (2021), en una tesis desarrollada en la Universidad Andina del Cusco, tuvo por objetivo evaluar el efecto neuroprotector de una macamida sintética

(MCH1) sobre el daño cerebral, la respuesta sensorio-motora y el deterioro de la memoria y el aprendizaje espacial causados por una isquemia cerebral focal en ratas. El estudio fue experimental, con un modelo animal de isquemia por oclusión de la arteria cerebral media (MCAO) en ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, distribuidas en un grupo con lesión y tratamiento (MCH1), un grupo con lesión y vehículo, y un grupo control (SHAM). El procedimiento consistió en administrar una dosis intraperitoneal de 3 mg/kg de MCH1 antes de la oclusión, y evaluar después el volumen de infarto, la función sensorio-motora (mediante una escala neurológica) y el aprendizaje y la memoria espacial en el laberinto de Barnes (la misma prueba empleada en el presente trabajo). Los datos se analizaron con ANOVA de una y dos vías (con post hoc de Tukey o de Bonferroni) y con la prueba de Kruskal-Wallis (con post hoc de Dunn). En cuanto a la neuroprotección, el tratamiento con MCH1 redujo de forma significativa el porcentaje de área de infarto (ANOVA de una vía, $F(2, 15) = 27{,}88$, $p < 0{,}0001$) y mejoró la puntuación en la escala neurológica sensorio-motora (Kruskal-Wallis, $H = 26{,}07$, $p < 0{,}001$) respecto al grupo con lesión sin tratar. Sin embargo, en el plano conductual, los animales sometidos a la isquemia no mostraron un déficit de aprendizaje ni de memoria espacial en el laberinto de Barnes, por lo que el tratamiento con MCH1 no indujo ningún efecto sobre estas funciones. La autora concluyó, en coherencia con su objetivo, que la macamida MCH1 ejerció un efecto neuroprotector sobre el daño estructural y sensorio-motor, aunque, al no producirse un deterioro mnésico en este modelo, no pudo evidenciarse un efecto sobre el aprendizaje y la memoria espacial.

Ybañez-Julca et al. (2021) se propusieron evaluar los efectos del extracto acuo-

so de maca roja (*Lepidium meyenii*) sobre la conducta de tipo antidepresivo y la memoria espacial en ratas. El estudio fue experimental, con animales distribuidos según el tratamiento. La conducta antidepresiva se evaluó en ratas macho y la memoria espacial en ratas ovariectomizadas (OVX), e incluyó fármacos de referencia (fluoxetina y amitriptilina para la conducta afectiva, y estradiol para la memoria). El procedimiento empleó la prueba de nado forzado para la conducta de tipo antidepresivo y el laberinto acuático de Morris para la memoria espacial, además de la medición del malondialdehído (MDA) cerebral como marcador de estrés oxidativo. Los datos se analizaron con ANOVA seguido de pruebas de comparación múltiple. En la prueba de nado forzado, la maca roja redujo de forma dosis-dependiente el tiempo de inmovilidad respecto al control ($p < 0,05$ a $p < 0,001$), un perfil conductual propio de un efecto antidepresivo. En el laberinto de Morris, las ratas OVX mostraron un menor tiempo en el cuadrante objetivo y un menor número de cruces que el grupo intacto, y el tratamiento con maca roja revirtió de forma dosis-dependiente este deterioro (con un mayor tiempo en el cuadrante objetivo y un mayor número de cruces), lo que indica una mejora de la memoria espacial. Los autores concluyeron, en coherencia con su objetivo, que la administración oral de maca roja posee un efecto de tipo antidepresivo en ratas macho e incrementa la capacidad de aprendizaje y memoria espacial en ratas ovariectomizadas.

2.3 Bases teóricas

2.3.1 Mecanismos de memoria y su deterioro

2.3.1.1 Sistemas de memoria. Un hito importante en el estudio científico moderno de la memoria fue el trabajo de Milner y sus colegas, que caracterizaron el déficit de memoria del paciente Henry Molaison (H.M.) a principios de la segun-

da mitad del siglo XX. Este era justamente un paciente con epilepsia quien, para controlar crisis epilépticas frecuentes y resistentes a otros tratamientos, había sido sometido a una lobectomía a los 27 años. Desde entonces, aunque dichos ataques remitieron, el paciente sufrió un déficit específico de memoria: demostraba conservación del resto de sus funciones cognitivas, incluida la capacidad de evocar algunas memorias anteriores a la cirugía y de aprender habilidades motoras, pero no podía formar nuevos recuerdos de acontecimientos y hechos (Milner et al., 1968).

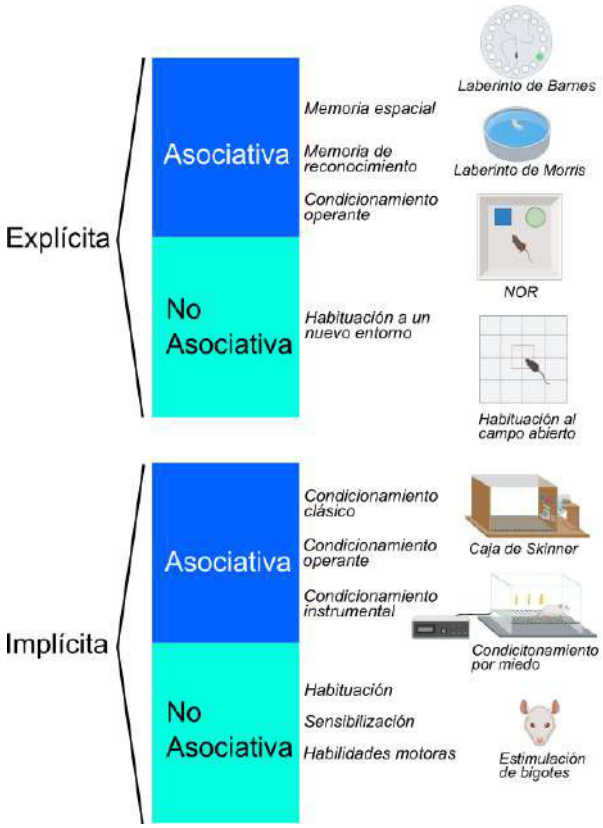
El estudio de este caso, junto a otros con lesiones similares, permitió a Milner y sus colegas plantear una función específica del hipocampo y otras estructuras del lóbulo temporal en la formación de ciertas memorias (Penfield y Milner, 1958).

Otros hitos fueron los estudios de Gaffan (1974) que mediante su estudio de lesiones en el fórnix de macacos rhesus ayudó a diferenciar entre memoria de reconocimiento y asociativa.

Estos trabajos tempranos en conjunto contribuyeron a establecer la noción (antigua, pero previamente no soportada por evidencia experimental de calidad, véase Squire y Dede, 2015 para un recuento histórico más amplio), de que existen diferentes sistemas de memorias, a nivel temporal (de trabajo, de corto y de largo plazo) y de contenido (explícita o implícita), y en cuya función diferentes sistemas cerebrales contribuyen con diferentes grados de importancia e independencia. Esto conllevó taxonomías recientes como la de Quillfeldt (2016). Esta se ilustra en la Figura 5.

Figura 5

Sistemas de memoria y paradigmas experimentales asociados



Nota. Basada en la taxonomía de Quillfeldt (2016). Elaboración propia, con elementos de Biorender (bajo licencia individual que permite su uso en trabajos de tesis).

Este autor plantea un modelo de tres niveles. En el primer nivel se encuentra una dicotomía entre memorias implícitas y explícitas. En la experiencia humana, la memoria explícita comprende hechos, conocimientos, o eventos, y la memoria implícita se refiere a habilidades motoras, sensoriales y hábitos (Quillfeldt, 2017). Se usa esta terminología en reemplazo de “declarativa” y “procedural” porque estas antropomorfizan fenómenos con características muy similares en animales no humanos y dificultan la interpretación y la translación de resultados experimentales.

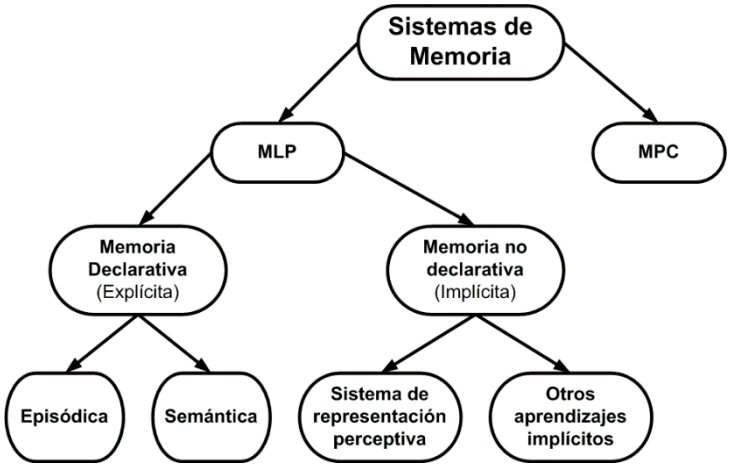
En el segundo nivel, por otro lado, se encuentra una dicotomía entre memoria asociativa y no asociativa, la primera de las cuales se refiere a asociaciones entre estímulos y respuestas, o entre dos estímulos. Las contingencias estímulo-respuesta corresponden al producto del aprendizaje por condicionamiento clásico, y las que

implican una respuesta del sujeto o animal necesaria para obtener un resultado, como obtener comida o evitar un castigo, corresponden al condicionamiento operante.

Se plantea además un tercer nivel, para dicotomías específicas dentro de los niveles anteriores tales como la memoria producto de aprendizaje por estímulos aversivos versus estímulos apetitivos, o la naturaleza del comportamiento a evaluar, si acentuadamente espacial o no espacial (Quillfeldt, 2017).

Figura 6

Modelo contemporáneo de dos sistemas de memoria humana



2.3.1.2 Mecanismos básicos de memoria. La primera teoría de relevancia en este respecto la propuso Santiago Ramón y Cajal quien planteó que la memoria se almacena como cambios anatómicos en el fortalecimiento de conexiones (como es citado en Kandel et al., 2014). Esto es, lo que se conoce actualmente de forma general como plasticidad neuronal.

La hipótesis de que la memoria reside en cambios de la eficacia de las conexiones (anticipada por Tanzi [1893] y por Ramón y Cajal [1894], quien la vinculó al crecimiento de conexiones entre neuronas existentes, según la revisión histórica de Brown et al. [2021]) recibió su formulación teórica más influyente con el postulado

de Hebb (1949): la activación repetida y persistente de una neurona presináptica sobre una postsináptica fortalece su conexión ("las neuronas que se activan juntas se conectan"). Este marco planteó un programa experimental claro (demostrar el fortalecimiento sináptico dependiente del uso), pero su contrastación exigía un sistema tratable. Por ello, la investigación de la segunda mitad del siglo XX recurrió a modelos reduccionistas de invertebrados, en particular a *Aplysia californica*: este molusco posee neuronas grandes e identificables y circuitos simples (como el del reflejo de retracción de la branquia y el sifón) que permiten relacionar directamente cambios sinápticos con conductas elementales de aprendizaje (Kandel, 2012; Glanzman, 2010).

El estudio de la habituación, un tipo de memoria implícita no-asociativa, en este paradigma reveló que la estimulación repetida del sifón provocaba una depresión en la eficacia sináptica entre la neurona sensorial y la neurona motora, y de forma conversa la estimulación con estímulos fuertes provocaba facilitación de la eficacia sináptica que se manifestaba como sensibilización. A ambos fenómenos subyace la cantidad de neurotransmisor liberado presinápticamente (Castellucci y Kandel, 1974; Castellucci et al., 1978). Posteriormente, en otro estudio realizado por el mismo grupo de Kandel, se encontró la mediación de la eficacia sináptica por influencia de serotonina y la subsiguiente activación de cAMP en la neurona sensorial, lo cual provoca una mayor liberación de glutamato de su parte (Brunelli et al., 1976).

De la forma en como está conformado este circuito simple, este hecho implicó que los mecanismos se encuentran embebidos en dicho circuito, y que la información de estas formas elementales de memoria no requiere almacenamiento en células

especializadas. Esto ocurre de forma similar en el condicionamiento clásico donde la asociación, y precedencia de un estímulo condicionado (estimulación táctil) causa un aumento en la facilitación de eficacia sináptica entre la neurona motora y sensorial, lo que además en este caso está mediado por la despolarización de neurona postsinápticas (Murphy y Glanzman, 1997).

A nivel temporal, en memorias de corto y largo plazo se descubrió que estaban mediadas por el mismo fenómeno, es decir la facilitación de la eficacia sináptica, y los mecanismos para la transición de una a otra eran secuenciales: mientras una sola aplicación de serotonina produce una facilitación corta, la aplicación repetida provoca la síntesis de nuevas proteínas. El incremento de los niveles de cAMP intracelulares provoca que la subunidad catalítica de PKA (proteína kinasa dependiente de cAMP) reclute a MAPK (proteína kinasa activada por mitógenos), y juntos, en el núcleo fosforilan factores de transcripción activando expresión de genes (Kandel et al., 2014). CREB1, un regulador positivo, es uno de estos factores de transcripción y está selectivamente implicado en la facilitación a largo plazo. La contraparte de este es CREB2, un regulador negativo que bloquea la facilitación (Kandel et al., 2014).

En paralelo, una línea independiente exploraba la plasticidad en el hipocampo de mamíferos. Bliss y Lomo (1973) observaron que breves trenes de estimulación de alta frecuencia en la vía perforante producían una potenciación duradera de la respuesta sináptica en el giro dentado del conejo, fenómeno que caracterizaron como potenciación a largo plazo (LTP). La LTP exhibe propiedades de tipo hebbiano (cooperatividad y asociatividad [McNaughton et al., 1978]) y su inducción asociativa depende de los receptores NMDA, que operan como detectores de coin-

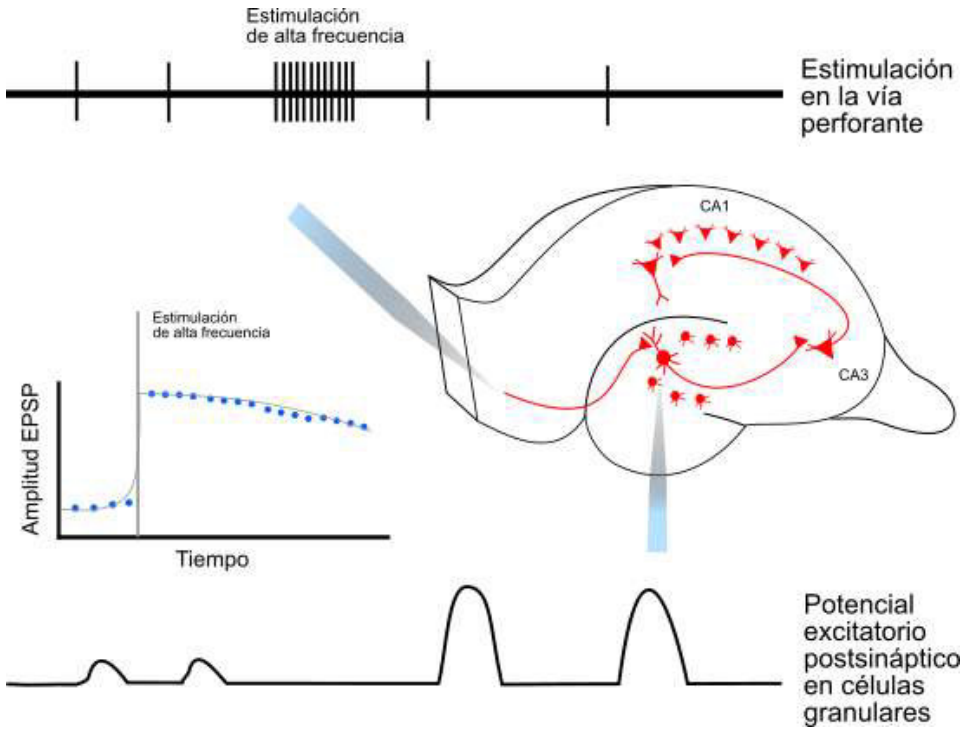
cidencia (Collingridge, Kehl y McLennan, 1983; Abraham et al., 2024). Los mecanismos de memoria en mamíferos e invertebrados comparten una lógica molecular conservada (PKA, MAPK, CREB-1/CREB-2; fases temprana por modificación de proteínas preexistentes y tardía por síntesis nueva), e incluso se ha documentado LTP dependiente de NMDA en sinapsis de *Aplysia* (Kandel, 2012). Esta conservación a través de grandes distancias evolutivas es la que legitima extrapolar los principios de la plasticidad desde modelos simples hasta el hipocampo de mamíferos (y, por tanto, su pertinencia para el estudio de la memoria y su deterioro en roedores).

Tras décadas de investigación del LTP en contextos experimentales y vinculado a diversos paradigmas comportamentales, se sabe ahora que existen muchos tipos de LTP, según la zona en la que se inducen y asociados a diferentes tipos de memoria y aprendizaje. Gall et al. (2024) hizo un recuento de estos y menciona que la vía CA3–CA1 clásica, inducida por estimulaciones en frecuencias teta, produce una codificación rápida no supervisada que subyace a los elementos de memorias episódicas de “cuándo, dónde y qué” (relevante en este trabajo) y el aprendizaje no supervisado, que es aquel que se encuentra cotidianamente, libre de refuerzos, castigos o ensayos repetidos, como podría ser en la prueba NOR, y que justamente se da en una sola exposición, la cual puede durar hasta 24 horas (Gall et al., 2024). Luego, se encuentra el LTP inducido por la vía perforante lateral–giro dentado, que, en contraste, también, de manera relevante para este trabajo, requiere la mediación de endocannabinoides y está vinculado a contingencias operantes y al aprendizaje por discriminación. La vía perforante medial–giro dentado, de importancia en el componente espacial de la memoria episódica (“dónde”), constituye

otra de las formas de LTP identificadas.

2.3.1.3 Mecanismos de memorias explícitas. En el presente trabajo se explora el deterioro de dos tipos de memorias explícitas a largo plazo en un modelo experimental. Aunque, a nivel celular, y como se mencionó anteriormente, los mecanismos básicos detrás del aprendizaje en modelos “simples” como Aplysia y mamíferos como ratas y humanos son muy similares y en muchos respectos, idénticos (Glanzman, 2010), el estudio de la memoria explícita es más complejo, puesto que se trata de un fenómeno emergente cuyo estudio implica contingencias complejas que están basadas en estímulos multimodales. Por ello, como se mencionó, los primeros acercamientos al investigar este tipo de memoria fueron principalmente cualitativos, en forma de estudios de casos clínicos y modelos de lesiones, que develaban la ausencia específica de función y su vinculación a una estructura, siendo el hipocampo central para este tipo de memoria. Posteriormente se desarrollaron técnicas electrofisiológicas, y de imagen funcional para explorar la función a nivel de redes, in vivo.

Figura 7
Potenciación a largo plazo en el hipocampo



Nota. Este esquema muestra el fenómeno de LTP para fines ilustrativos y los puntos de datos no se basan en datos experimentales reales. El rasterplot de la parte superior muestra pulsos de estimulación y el registro de la parte inferior muestra un registro de unidad correspondiente en la misma escala de tiempo. Elaboración propia.

Del primer tipo son los estudios tempranos de O'Keefe y Dostrovsky (1971), quienes mediante el registro de unidades en la zona dorsal del hipocampo en ratas (CA1), vincularon la activación selectiva de algunas células a una posición particular del animal en la plataforma de prueba, lo que ahora se conoce como células de lugar, y estudio mediante el cual se llegó a conocer la función del hipocampo como estructura implicada en la representación espacial de nuestro entorno. Este hallazgo fue complementado más recientemente por el estudio de células de la estructura parahipocampal de la corteza entorrinal, en la zona dorsocaudal medial, que proyectan al hipocampo y se mostró que transmiten información sobre posición, distancia y orientación (Hafting et al., 2005).

2.3.1.4 Memoria espacial. La memoria espacial es un proceso cognitivo que se refiere a la habilidad de un individuo para aprender, recordar y conceptualizar información sobre su ambiente y la ubicación de los objetos dentro de él. Las personas con epilepsia pueden experimentar déficits de memoria espacial. Esto se infiere del examen neuropsicológico de dichos pacientes, como fue el caso de H.M. que reportaba dificultades en recordar el trayecto a su residencia (Milner et al., 1968), y de manera experimental con tareas de navegación y laberintos virtuales, como por ejemplo el estudio realizado por Cánovas et al. (2011). En estudios neuropsicológicos, aunque se ha planteado cierta lateralización de esta función en el hipocampo y en consecuencia su afectación de forma diferencial por epilepsias lateralizadas, se ha mostrado que esta puede ser afectada tanto por epilepsias lateralizadas en el hipocampo izquierdo como el derecho (Amlerova et al., 2014).

2.3.1.5 Estudio experimental de la memoria espacial. Muchos modelos de epilepsia del lóbulo temporal en roedores replican los déficits de memoria espacial antes referidos y se estudian mediante diversas estrategias, como el laberinto de Morris, que probablemente es la prueba más usada y consiste en el uso de una piscina circular llena de agua opaca donde se libera el roedor y, con la ayuda de signos visuales (navegación alocéntrica), debe encontrar una plataforma oculta. A partir de esto, se capturan parámetros como la culminación de la tarea en el tiempo límite, la tasa de disminución de la latencia y estrategias de navegación a través de ensayos repetidos para comparar cuantitativamente grupos experimentales de animales (Guarino et al., 2024). Otra prueba utilizada con frecuencia es el laberinto de Barnes, que muchas veces es caracterizado como un laberinto de Morris seco, donde el animal debe encontrar un escape en una plataforma circular, tam-

bién con la ayuda de signos visuales (Guarino et al., 2024). Aunque usualmente el laberinto de Morris es considerado una prueba más sensible, el laberinto de Barnes cuenta con la ventaja de ser menos estresante y peligroso para sujetos que pueden desarrollar convulsiones espontáneas en medio de las pruebas, además de contar con una mayor validez ecológica, ya que los roedores en su comportamiento normal usualmente evitan el agua (Dyomina et al., 2023). Por último, también se usa la prueba de localización novedosa, que es la prueba más simple de las tres y consiste en exponer en un momento a la rata a dos objetos idénticos, y en momentos posteriores a los mismos objetos, pero con la localización de uno de ellos cambiada. El parámetro capturado en este caso es el tiempo de exploración, donde se espera que las ratas exploren más tiempo ese último objeto (Guarino et al., 2024).

2.3.1.6 Prueba del laberinto de Barnes y su validez. El laberinto de Barnes, introducido por Barnes (1979), es una de las pruebas más empleadas para evaluar el aprendizaje y la memoria espacial en roedores. Consiste en una plataforma circular elevada con orificios equidistantes en su perímetro, uno de los cuales conduce a una caja de escape mientras que los demás son ciegos. El animal, motivado por su aversión natural a los espacios abiertos e iluminados, debe aprender la ubicación del escape orientándose mediante señales visuales distales dispuestas en la sala (navegación alocéntrica). El parámetro principal es la latencia de escape, junto con el número de errores y las estrategias de búsqueda a lo largo de los ensayos.

A diferencia de los instrumentos psicométricos empleados con seres humanos, las pruebas conductuales espontáneas en roedores no se evalúan mediante los índi-

ces clásicos de confiabilidad (test-retest o consistencia interna), y su adecuación se establece más bien a través de distintas formas de validez. En cuanto a la validez aparente (*face validity*), la tarea reproduce de manera evidente un problema de navegación y memoria espacial, al exigir el uso de claves distales para localizar un refugio, aunque los animales pueden resolverla en parte con estrategias no espaciales (seriales o de punto de elección) y su desempeño puede verse influido por el estrés y la motivación derivados de la exposición. Respecto a la validez de constructo, el desempeño en el laberinto de Barnes depende de los sustratos de la memoria espacial (en particular del hipocampo y de mecanismos dependientes de receptores NMDA y de modulación colinérgica), lo que la sitúa dentro de la clase de tareas espaciales hipocampo-dependientes, si bien la conducta medida es un índice indirecto del constructo y puede verse afectada por la ansiedad, la locomoción o la función sensorial (Dyomina et al., 2023).

En cuanto a la validez predictiva, el desempeño es sensible a manipulaciones farmacológicas relevantes para la clínica (los inhibidores de la colinesterasa, como el donepezilo, mejoran los déficits, mientras que agentes amnésicos, como la escopolamina, los agravan), lo que respalda su utilidad para el cribado y la retrotraducción farmacológica, aunque su sensibilidad no es uniforme en todos los modelos de enfermedad. Por último, su validez ecológica o etológica constituye una de sus ventajas: aprovecha conductas propias de la especie (la aversión a los espacios abiertos e iluminados y la búsqueda de refugio) y, al ser una prueba en seco, resulta menos estresante que el laberinto acuático de Morris, aunque sigue siendo un paradigma de laboratorio que aparta al animal de sus condiciones naturales (Guarino et al., 2024; Dyomina et al., 2023).

2.3.1.7 Memoria de reconocimiento. La memoria de reconocimiento se entiende como un subtipo de memoria declarativa, la cual es la habilidad de recolectar acontecimientos personales en la vida, hechos y eventos y es dependiente en estructuras interconectadas del lóbulo temporal medial (Cohen y Stackman, 2015). La memoria de reconocimiento es la habilidad para juzgar si un estímulo es viejo o novedoso, dependiendo de si fue encontrado previamente en el pasado. Este tipo de memoria se puede dividir en dos tipos: Recuerdo y familiaridad (Van Goethem et al., 2018). Esta división se basa en el modelo de proceso dual de memoria de reconocimiento, la cual, en oposición al modelo de un solo proceso (que asume el reconocimiento como un solo proceso de familiaridad, pero en diferentes grados), plantea que el reconocimiento implica procesos distinguibles de recuerdo (o recuperación de información episódica) y familiaridad (Diana et al., 2006).

Este modelo de reconocimiento es apoyado por estudios de lesiones y neuroimagenes. Una revisión sobre este tipo de estudios y sus efectos en la memoria de reconocimiento determinó que ambos procesos, de recuerdo y familiaridad tiene substratos neuronales parcialmente separados: El proceso de recuerdo es principalmente dependiente del hipocampo y la corteza prefrontal, mientras el proceso de familiaridad es principalmente dependiente de regiones que rodean el hipocampo, aunque ambos procesos comparten un alto grado de estructuras comunes (Yonelinas, 2002).

Aunque a menudo se las agrupa bajo el rótulo común de “memoria declarativa”, la memoria de reconocimiento de objetos y la memoria espacial dependen de sustratos parcialmente disociables dentro del lóbulo temporal medial (LTM). La corteza perirrinal es la estructura crítica para el reconocimiento de objetos (en particular

para los juicios de familiaridad, es decir, para determinar si un ítem ha sido encontrado previamente), mientras que el hipocampo es esencial para la memoria espacial, incluida la formación de mapas cognitivos y la navegación alocéntrica (Eichenbaum et al., 2007). Esta diferenciación se sostiene en una doble disociación lesional robusta: las lesiones de la corteza perirrinal deterioran de forma marcada el reconocimiento de objetos preservando la memoria espacial, en tanto que las lesiones hipocampales deterioran el aprendizaje espacial dejando relativamente intacto el reconocimiento de ítems individuales (Aggleton et al., 2010; Barker y Warburton, 2011). El estudio de Barker y Warburton (2011) es especialmente concluyente, pues (empleando el mismo aparato, las mismas demoras y los mismos estímulos) mostró que las lesiones hipocampales afectan la memoria de localización de objetos pero no el reconocimiento de objetos a demoras de 5 minutos, 3 horas o 24 horas.

A nivel mecanístico, las neuronas perirrinales señalan la familiaridad mediante una supresión de respuesta específica de estímulo (menor tasa de disparo ante objetos familiares), un proceso que puede sostener el reconocimiento sin participación hipocampal y que se vincula al almacenamiento de representaciones conjuntivas de los rasgos del objeto (Eichenbaum et al., 2007; Cowell et al., 2006). El hipocampo, en cambio, construye representaciones espaciales a través de sus células de lugar (Redish y Touretzky, 1998). Anatómicamente, ambas funciones se apoyan en corrientes paralelas que convergen en el hipocampo: una corriente ventral del "qué" (perirrinal a corteza entorrinal lateral) para el procesamiento del ítem y una corriente dorsal del "dónde" (postrrinal/parahipocampal a corteza entorrinal medial) para la información espacial (Eichenbaum et al., 2007). La dicotomía admite mati-

ces (el hipocampo se vuelve necesario cuando el reconocimiento incorpora componentes espaciales, contextuales o episódicos fuertes [Cinalli et al., 2020]), pero, para el reconocimiento de la identidad de un objeto manteniendo constantes su posición y su contexto, la operación es prototípicamente perirrinal. Esta distinción es relevante para el presente trabajo, en el que se evalúan de manera independiente un dominio dependiente de la corteza perirrinal (reconocimiento de objetos) y un dominio dependiente del hipocampo (memoria espacial en el laberinto de Barnes).

2.3.1.8 Estudio experimental de la memoria de reconocimiento. El estudio experimental de la memoria de reconocimiento en roedores se apoya principalmente en paradigmas de exploración espontánea que aprovechan su preferencia innata por la novedad y que, a diferencia de las tareas operantes (como el emparejamiento demorado a la muestra), no requieren refuerzo ni un entrenamiento prolongado (Ennaceur y Delacour, 1988; Antunes y Biala, 2012). La prueba paradigmática es la de reconocimiento de objetos novedosos (NOR), introducida por Ennaceur y Delacour (1988), que consta de tres fases: una habituación a una arena vacía, una fase de familiarización en la que el animal explora dos objetos idénticos y una fase de evaluación en la que uno de ellos se sustituye por un objeto novedoso. Dado que el animal que recuerda el objeto familiar explora preferentemente el novedoso, un mayor tiempo de exploración de este último indica reconocimiento (Antunes y Biala, 2012; Lueptow, 2017). El parámetro primario es el índice de discriminación, que expresa la diferencia entre el tiempo dedicado al objeto novedoso y al familiar en relación con el tiempo total de exploración (Lueptow, 2017). Entre sus ventajas se cuentan la sencillez, la rapidez, el bajo nivel de estrés en comparación con el laberinto acuático de Morris y su versatilidad, ya que, al variar

el intervalo de retención entre la familiarización y la evaluación, permite sondear la memoria a corto o a largo plazo (Antunes y Biala, 2012; Lueptow, 2017). Modificando el arreglo espacial, temporal o contextual de los objetos, este paradigma da lugar a una familia de variantes que reclutan sustratos parcialmente distintos: la prueba de localización de objetos (antes referida), sensible a la memoria espacial y dependiente del hipocampo, y las pruebas de objeto-en-lugar y de orden temporal, que exigen integrar la información del "qué", el "dónde" y el "cuándo" y que reclutan una red más amplia que incluye la corteza prefrontal medial además de la corteza perirrinal y el hipocampo (Barker et al., 2007). Estas variantes sondean formas progresivamente más complejas y asociativas del reconocimiento. La presente investigación empleó la prueba NOR en su forma canónica (reconocimiento de la identidad del objeto, manteniendo constantes su posición y su contexto, con una demora de 24 horas propia de la memoria de largo plazo), lo que aísla el juicio de familiaridad dependiente de la corteza perirrinal y la convierte en una herramienta idónea para detectar una comorbilidad circunscrita al reconocimiento, con relativa independencia de la función espacial hipocampal.

2.3.1.9 Prueba de reconocimiento de objetos novedosos y su validez. La prueba de reconocimiento de objetos novedosos (NOR), introducida por Ennaceur y Delacour (1988), es uno de los paradigmas más utilizados para evaluar la memoria de reconocimiento en roedores. Aprovecha la tendencia espontánea de estos animales a explorar más un objeto novedoso que uno familiar, sin necesidad de refuerzo ni de entrenamiento prolongado: tras una fase de familiarización con dos objetos idénticos, se sustituye uno por otro nuevo, y una mayor exploración del objeto novedoso indica el reconocimiento del familiar. El parámetro principal es el

índice de discriminación, derivado de los tiempos de exploración (Antunes y Biala, 2012).

Como en el caso anterior, su adecuación se establece a través de la validez y no de la confiabilidad psicométrica clásica. Su validez aparente es de moderada a buena: la tarea guarda una relación directa con la prueba de comparación visual pareada (*Visual Paired Comparison*) empleada en lactantes humanos y primates, y el índice de discriminación se ha validado como una medida de la sensibilidad del reconocimiento y no de un sesgo de respuesta. Sus limitaciones derivan de que se basa en la exploración espontánea (y no en un juicio explícito) y de que capta solo parcialmente los componentes de la memoria episódica, sobre todo el temporal (Cohen y Stackman, 2015). En cuanto a la validez de constructo, es elevada: el desempeño depende de circuitos centrales para la memoria de reconocimiento, en especial de la corteza perirrinal y del lóbulo temporal medial, con una participación creciente del hipocampo cuando aumentan las demandas contextuales o espaciales, circuitos que se corresponden a grandes rasgos con los del reconocimiento humano (Eichenbaum et al., 2007; Barker y Warburton, 2011). Su validez predictiva es más limitada: aunque la prueba es sensible a numerosas manipulaciones farmacológicas y patológicas y resulta útil como cribado preclínico rápido de efectos procognitivos o amnésicos, su traslación al beneficio cognitivo humano es inconsistente. En cambio, su validez etológica es alta, pues se apoya en la neofilia y la exploración espontánea propias de la especie y no requiere estímulos aversivos, privación ni entrenamiento, lo que la convierte en una de las pruebas más respetuosas con el bienestar animal, si bien las condiciones artificiales del laboratorio (la manipulación estresante, la iluminación o los sesgos de los

objetos) pueden reducir esa naturalidad (Ennaceur y Delacour, 1988; Antunes y Biala, 2012).

2.3.1.10 Deterioro cognitivo asociado a la epilepsia. Usualmente se considera como condición mínima para el diagnóstico de la epilepsia ataques epilépticos recurrentes que se producen de manera espontánea. Es decir, sin la intervención directa de eventos precipitantes como drogas o fiebres elevadas, aunque estos ejemplos son factores que pueden contribuir próximamente al desarrollo de la enfermedad (Kandel et al., 2021)

En los últimos años se han hecho intentos para definir rigurosamente y en términos prácticos (principalmente para el diagnóstico clínico) esta enfermedad. Uno de estos proviene de la Liga Internacional contra la Epilepsia, de acuerdo a la cual se trataría de un desorden del cerebro caracterizado por las siguientes condiciones (Fisher et al., 2014): A) Al menos dos ataques epilépticos no provocados con al menos 24 horas de separación entre estos (periodo interictal). B) Luego de dichos ataques, un ataque epiléptico y la probabilidad de otros (establecida por los autores en 60%) en los próximos diez años. C) Un diagnóstico médico de epilepsia. También se detallan criterios para considerar resuelta la enfermedad: La epilepsia se considera resuelta en individuos que no han experimentado ataques en el periodo de al menos diez años (o cinco años, si no se encuentran bajo administración de medicamentos antiepilépticos).

Aquí son contrastados los términos *epilepsia resuelta* y *epilepsia curada* ya que esta última implicaría una remisión total en la que el riesgo de presentar la condición sea el mismo que el de la población general, lo que no reflejaría la realidad de la condición, señalan dichos autores.

La ELT pertenece al grupo de epilepsias focales sintomáticas (López-Meraz et al., 2009).

Según algunos autores, se trataría de la epilepsia focalizada más frecuente en la población adulta (Wiebe, 2000; Semah et al., 1998), aunque esta información se encuentra algo desactualizada, porque como se comenta, la incidencia de la condición podría haber sido modificada por eventos como la disminución de casos de epilepsia totales, especialmente en países de renta alta (Beghi et al., 2019), un mejor control de factores etiológicos importantes como son las convulsiones febriles durante la infancia en la práctica médica, y también la aparición de una gran cantidad de casos de esta misma condición, producidas por infecciones de COVID-19 durante la pandemia de 2020-2024, la cual se discute en recientes trabajos como (Xu et al., 2023; Hanlon et al., 2023).

La ELT está asociada a diversas neuropatologías, a partir de las cuales se puede esquematizar la neuropsicología de dicha condición. La principal, ya mencionada, es la esclerosis hipocampal (en adelante, EH; Figura 8), cuya frecuencia ha sido cuantificada mediante neuroimagen: en un estudio con resonancia magnética en 243 pacientes, el 48% la presentaba (Tassi et al., 2009).

La EH se ha definido como la pérdida de células neuronales y la gliosis (proliferación de células gliales en zonas lesionadas) en el hipocampo, en especial en la primera división del *Cornu Ammonis* (CA1) (Wieser, 2004).

En la etiología de la EH pueden estar implicadas fiebres elevadas, traumas cerebrales y malformaciones corticales o vasculares (Walker, 2015), y a su vez, se cree que podría ser causa de la ELT (aunque esta condición también suele presentarse en ausencia de dicha patología). Sin embargo, también se ha encontra-

do que el hipocampo es particularmente susceptible a las descargas epilépticas y estas podrían producir EH, por lo que la relación causal parece ser compleja y bidireccional (Jefferys, 1999). Se ha reconocido que esta estructura cerebral está implicada en la consolidación de memorias, la memoria espacial y el reconocimiento de objetos (Pinel y Barnes, 2022).

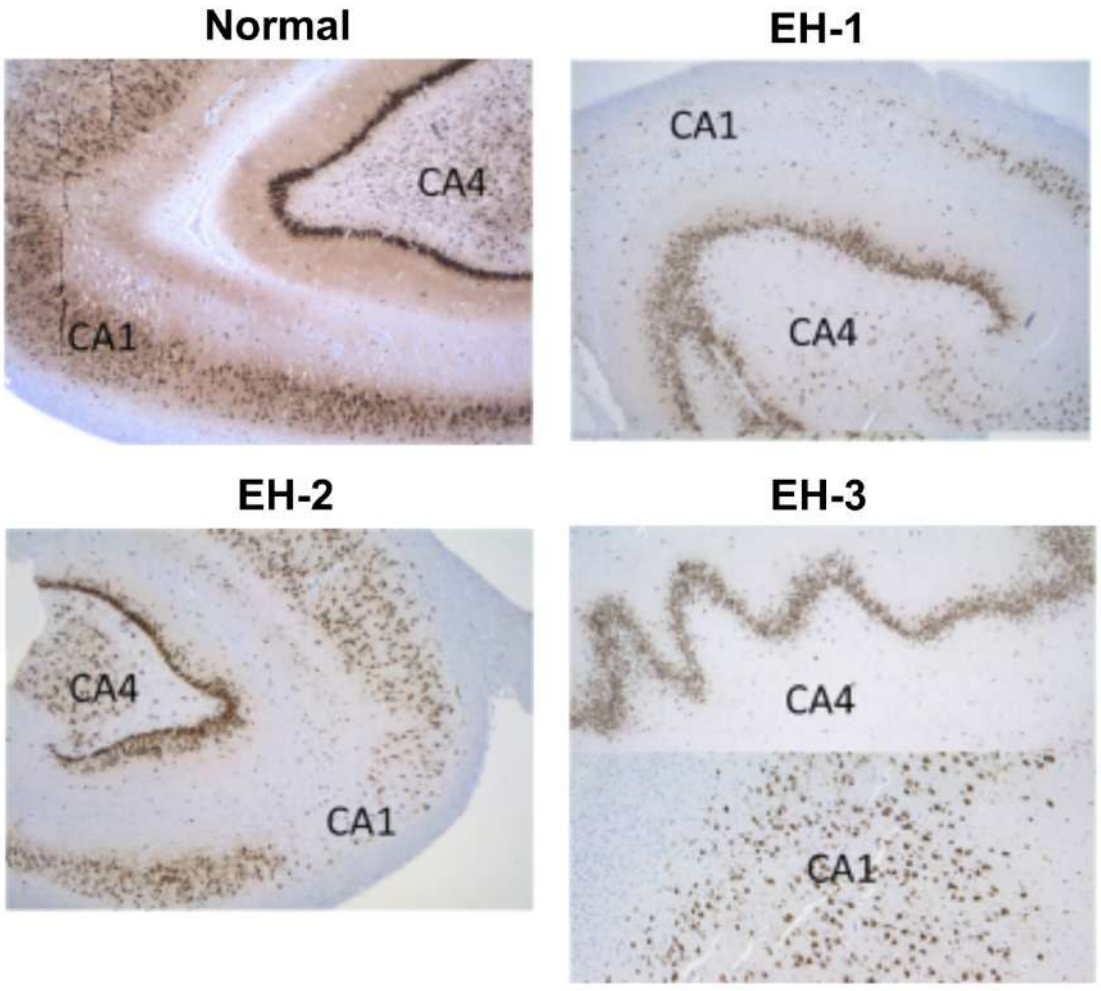
El énfasis tradicional en el hipocampo y la esclerosis hipocampal ha relegado el estudio de otras estructuras del lóbulo temporal medial que también participan en la fisiopatología y en la neuropsicología de la epilepsia, en especial la corteza perirrinal. Esta estructura cumple un doble papel: es un nodo crítico en la generación y propagación de las crisis y, a la vez, el sustrato de la memoria de reconocimiento de objetos (Biagini et al., 2013). En los paradigmas de kindling, la corteza perirrinal es el sitio del prosencéfalo que kindlea con mayor rapidez (requiere el menor número de estimulaciones para alcanzar la crisis generalizada) y actúa como amplificador de la propagación de las crisis límbicas hacia las áreas motoras, mientras que el hipocampo kindlea más lentamente y puede ejercer un control supresor (McIntyre y Gilby, 2008; Vismer et al., 2015).

De manera notable, esta elevada epileptogenicidad no se acompaña de un daño estructural macroscópico comparable al hipocampal, la corteza perirrinal muestra una pérdida selectiva de interneuronas inhibitorias (parvalbúmina, NPY, CCK) sin pérdida apreciable de neuronas principales, junto con hiperexcitabilidad de red, y puede presentar reducciones volumétricas incluso en ausencia de esclerosis hipocampal (Biagini et al., 2013). Esta disociación entre susceptibilidad funcional y daño histológico es importante, porque una disfunción perirrinal (por disinhibición e hiperexcitabilidad) puede degradar el reconocimiento de objetos aun sin muerte

neuronal masiva. De hecho, en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal el desempeño en memoria de reconocimiento correlaciona con el metabolismo interictal entorrinal/perirrinal (Biagini et al., 2013). Así, el reconocimiento de objetos constituye un dominio mnésico potencialmente vulnerable en la epilepsia, de manera relativamente independiente del estado del hipocampo.

Figura 8

Esclerosis hipocampal en pacientes con epilepsia



Nota. Imágenes provenientes de un estudio de inmunohistoquímica por NeuN de hipocampos reseccionados de pacientes con epilepsia que presentan esclerosis hipocampal. El control (normal) se trata de una resección del hipocampo con una condición no relacionada a la epilepsia (ganglioma) y no evidencia esclerosis. Treit et al. (2019). Licencia CC. 4.0. BY

2.3.2 La relación estrecha entre la potenciación a largo plazo, memoria y epilepsia

Como se expuso, la potenciación a largo plazo es el principal candidato para ser el sustrato de la memoria, pero, al mismo tiempo, es un fenómeno explicado mediante una serie de mecanismos en el nivel inmediatamente inferior: el nivel molecular. Como la epilepsia implica alteración funcional de canales, neuroinflamación, muerte celular y, posteriormente, formación de redes excitatorias aberrantes, se podría plantear una explicación del deterioro de la memoria en la disrupción de la potenciación a largo plazo, en un marco que balancee la interpretabilidad de los resultados y la profundidad teórica.

Marin-Castañeda et al. (2025) hizo una revisión de las cascadas moleculares que de forma común conducen tanto la potenciación a largo plazo, como a una desregulación en epilepsia. En los procesos neuroinflamatorios, las citoquinas que tienen su origen en la actividad de astrocitos y microglía actúan tanto promoviendo la plasticidad (en el caso de una actividad moderada), como degradando la generación del LTP, por ejemplo, IL-1β actúa limitando la entrada de calcio, mientras el efecto del factor de necrosis tumoral tiene dicho efecto dependiente de la concentración. La neuroinflamación es un componente importante de muchos modelos de epilepsia, que permite la hiperexcitabilidad autosostenida más allá de la permanencia del convulsivante en el organismo, como es el caso del PTZ (Monteiro et al., 2024).

Por otro lado, la cascada MAPK, elemento fundamental del LTP, como se mencionó en una sección anterior se encuentra también afectada y es de hecho ERK, una de sus vías que a través de su sobrerregulación promueve el brote de fibras

musgosas (Marin-Castañeda et al., 2025).

La vía mTOR cuya función específica en las neuronas comprende además la síntesis de proteínas que soporta la plasticidad y la etapa tardía del LTP, en epilepsia se encuentra implicada en un crecimiento aberrante de conexiones. Una función similar cumple la vía Wnt/β-catenina (Marin-Castañeda et al., 2025).

Y el que quizás es el mecanismo más estudiado, la desregulación de los cationes de calcio que promueve la actividad de CaMKII y otras quinasas, en un proceso muy similar al LTP pero aberrante, que promueve hiperexcitabilidad y conexiones ruidosas que afectan la transmisión de información necesaria para la memoria (Marin-Castañeda et al., 2025).

En el nivel celular muchos de estos procesos conducen a la excitotoxicidad, la cual implica al glutamato, el neurotransmisor excitatorio principal en el cerebro humano adulto (y el de otros mamíferos). Según la hipótesis de excitotoxicidad, los ataques epilépticos causan elevadas concentraciones de glutamato en el medio intercelular lo que desata una serie de eventos como la acumulación excesiva de iones de calcio en el medio intracelular, lo cual desemboca a su vez en la activación de la muerte celular mediada por las enzimas dependientes de calcio, como fosfatasas, proteasas y lipasas (Kandel et al., 2021).

Experimentalmente, mediante un modelo de pentilentetrazol (Mishra y Goel, 2013), exploraron los efectos de este en la memoria y el aprendizaje, y sugirieron algunos mecanismos de deterioro en el aprendizaje y la memoria: primero, aunque el glutamato está implicado en la plasticidad cerebral, que es la base de la memoria y el aprendizaje mediante la potenciación a largo plazo de receptores ionotrópicos y metabotrópicos, un nivel elevado de glutamato, de manera similar al encontrado

en condiciones degenerativas como el Alzheimer, hace que este neurotransmisor se torne un agente neurotóxico que conlleva a la muerte neuronal mediante la despolarización de membranas y la activación de receptores NMDA. Segundo, un nivel alterado de las neuronas noradrenérgicas (se halló un nivel significativamente disminuido de este neurotransmisor en los ratones tratados con PTZ), y se ha hipotetizado que la noradrenalina es crítica para la formación de memorias contextuales y espaciales. Tercero, se encontraron niveles reducidos de dopamina en los ratones tratados con PTZ. La dopamina estaría implicada en la consolidación de memorias mediante la inducción de potenciación a largo plazo en neuronas piramidales del hipocampo. Aunque este recuento es mecanicista y, evidentemente, la relación entre estos neurotransmisores y la memoria y el aprendizaje es más compleja y no esclarecida del todo, este estudio da cuenta de alteraciones a nivel de transmisores que podrían tener efectos adicionales en su deterioro, además de factores más fácilmente observables como la muerte neuronal y la alteración de estructuras (Mishra y Goel, 2013).

2.3.3 Factores del deterioro cognitivo en epilepsia

2.3.3.1 Deterioro específico del síndrome epiléptico. Un deterioro frecuente en los pacientes con ELT es el de la memoria declarativa (Helmstaedter y Kockelmann, 2006). También podría estar presente una disminución en la velocidad de procesamiento (Hwang et al., 2019). A nivel experimental, aunque existen ciertas dificultades teóricas a la hora de plantear el estudio de memorias episódicas en sujetos animales, se ha observado un deterioro de memorias tipo-episódicas (entendiéndose por estas la reconstrucción del qué, donde y cuando de una situación), en modelos en animales de la ELT (modelo de ácido kaínico, (Inostroza et

al., 2013)).

También puede observarse en muchos pacientes un deterioro específico de memorias a largo plazo, a nivel de contenido, dependiendo este de la lateralización específica de la ELT. En un trabajo (Narayanan et al., 2012) se observó un deterioro mayor de memorias de contenido verbal en los pacientes de ELT del hemisferio izquierdo (aunque, de manera estadísticamente significativa, no se observó lo contrario, esto es, un deterioro de memorias de contenido no verbal en pacientes con ELT del hemisferio derecho, hecho que los autores atribuyen a la dificultad de evaluar este tipo de memoria, porque las pruebas se administran en ambos tipos de memoria, de manera verbal).

Finalmente, en muchos pacientes también se ha observado un deterioro en ámbitos como el de la cognición social, viéndose afectadas especialmente dimensiones como la teoría de la mente y el reconocimiento de emociones (Bora y Meletti, 2016) y (Amlerova et al., 2014)

2.3.3.2 Factores individuales. Se ha sugerido que algunos factores individuales que podrían influir en los déficits cognitivos asociados a la ELT son la edad (una menor edad parece estar asociada a un peor pronóstico en esta comorbilidad, a largo plazo) y la reserva cognitiva presente en el individuo (medida como la línea base en las etapas iniciales de la enfermedad, con pruebas de inteligencia y memoria, y diagnóstico de desórdenes cognitivos) ((Helmstaedter y Elger, 2009), (Hermann et al., 2007),(Helmstaedter y Kockelmann, 2006)). Este es un efecto contrario al pronóstico observado en lesiones cerebrales como traumas, en los que el impacto en capacidades cognitivas suele mostrar mejor recuperación en niños. Este fenómeno es consistente con hallazgos de modelos experimentales

de kindling mediante PTZ. Por ejemplo, en un estudio llevado a cabo con ratones albinos suizos (Mishra y Goel, 2012), inmediatamente después de la inducción del modelo, los ratones más jóvenes (2 meses) tuvieron peor desempeño en pruebas de memoria y aprendizaje, a diferencia de los ratones adultos (6 meses) y ratones de edad avanzada (12 meses, aunque se apreció una distribución en forma de U invertida, desempeñándose los adultos mejor que los dos grupos).

2.3.4 Sistema endocannabinoide (SEC)

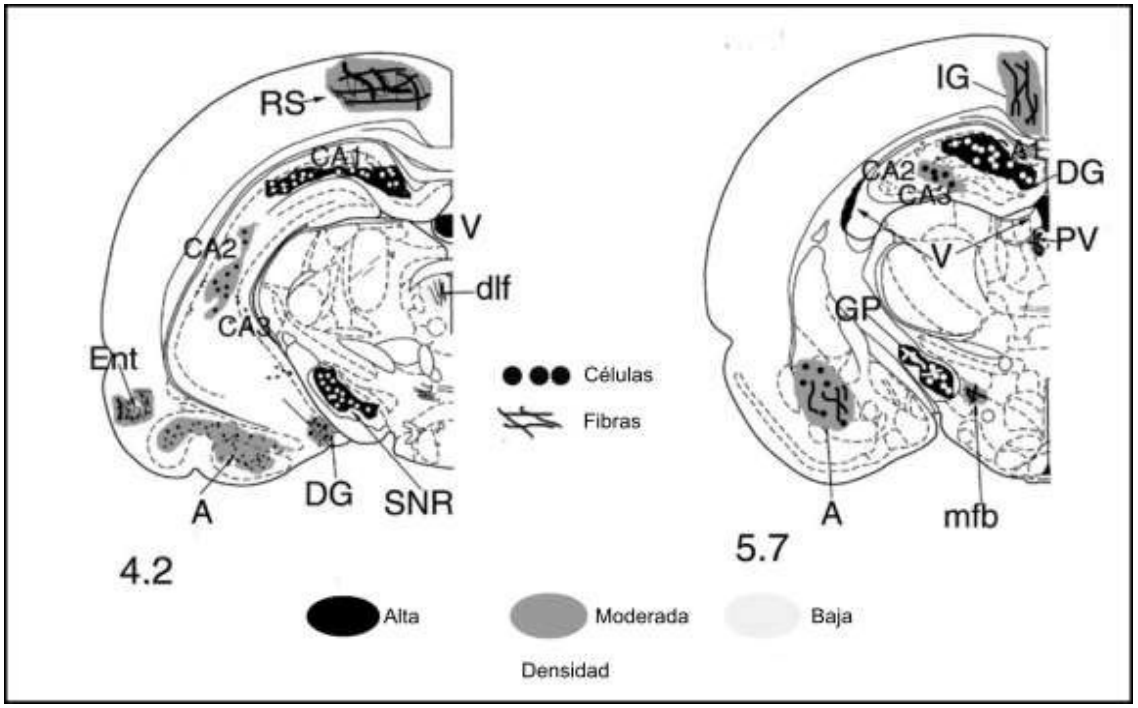
El sistema endocannabinoide es neurorregulador. Aunque actúa en diferentes sistemas y tejidos del cuerpo (para un recuento detallado de sus funciones fuera del SNC véase (Maccarrone et al., 2015), el sistema endocannabinoide en el cerebro actúa principalmente regulando la comunicación entre neuronas. Dicho sistema tiene como agentes principales los receptores cannabinoides, endocannabinoides y enzimas que son responsables de la síntesis y degradación de los anteriores (Lu y Mackie, 2016)

Una vez activado, la acción del receptor CB1 consiste en inhibir la adenilato ciclasa, y dependiendo del tipo de célula, inhibir los canales de calcio y estimular los canales de potasio. Como en el cerebro se encuentra en los terminales presinápticos de neuronas, la activación de este receptor inhibe la liberación de neurotransmisores, y por tanto las transmisiones sinápticas (Nestler et al., 2015). Un aspecto útil para predecir los efectos neuropsicológicos de la acción de los receptores CB1 en el cerebro es su distribución: esta es heterogénea, y, según una sistematización (Abood et al., 2005), se encuentra en altas concentraciones en zonas del cerebro como la corteza (aunque en diferente medida a través de zonas y capas de la corteza, estando totalmente ausente en la capa I), en el hipocampo y los gan-

glios basales (destacándose aquí la sustancia negra como la zona con mayor concentración detectada del receptor en todo el cerebro), (Figura 9). Al mismo tiempo, se encuentra en sus concentraciones más bajas en el tálamo y el tronco cerebral.

Figura 9

Densidad de localización de receptores CB1 en zonas del hipocampo



Nota. Esquema realizado como resultado de un estudio en el que se emplearon técnicas de inmunohistoquímica en el cerebro de ratas, llevado a cabo por Moldrich y Wenger (2000). Reproducción y traducción autorizadas por Elsevier mediante la licencia 6014970071703 para su uso en tesis o disertación.

Los receptores CB2 por otro lado tienen una expresión muy limitada en el cerebro (Nestler et al., 2015). Las funciones del receptor CB2 mejor documentadas por la literatura se encuentran fuera del sistema nervioso.

Los endocannabinoides son neurotransmisores atípicos en el sentido de que, a diferencia de otros (que se sintetizan de antemano y se almacenan en las vesículas sinápticas), estos se sintetizan a pedido y de manera instantánea en respuesta a ciertas condiciones, como niveles elevados de calcio intracelular (Alasmari et al., 2019). Aunque existen otros cannabinoides (como la virodamina), los más carac-

terizados biológicamente son la anandamida y 2-arachidonoylglicerol. La anandamida (AEA) es un endocannabinoide que actúa como agonista de baja eficacia en los receptores CB1 y CB2 (Lu y Mackie, 2016). El 2-arachidonoylglicerol (2-AG) es un endocannabinoide que actúa como agonista de alta eficacia en los receptores CB1 y CB2 (Lu y Mackie, 2016). La amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) es la principal enzima encargada de degradar ciertos endocannabinoides, en especial la anandamida. Al inhibir la FAAH, ciertos fármacos (como las macamidas) aumentan los niveles de anandamida y otros endocannabinoides en el cuerpo (Lu y Mackie, 2016).

2.3.4.1 Sistema endocannabinoide y epilepsia. Conociendo el papel regulador que toma parte el SEC en la actividad del sistema nervioso central, es posible imaginar que este pueda influenciar los mecanismos de la epilepsia, como los ataques epilépticos se tratan, de forma general, de descargas eléctricas sincrónicas y descontroladas. Se ha encontrado que pacientes con epilepsia del lóbulo temporal presentan una cantidad significativamente diferente de receptores CB1 en zonas implicadas en los ataques, aunque si la cantidad es menor o mayor, esto varía entre dichas zonas (Goffin et al., 2011).

El SEC opera como un sistema de retroalimentación retrógrada “a demanda”: el exceso de actividad postsináptica dispara la síntesis de endocannabinoides que, al actuar sobre receptores CB1 presinápticos, reducen la liberación de neurotransmisor y frenan la hiperexcitabilidad. Más allá de amortiguar la excitabilidad global, este sistema desincroniza el acoplamiento hipersincrónico patológico característico de las redes epilépticas y contiene la propagación de las crisis (de Castro Medeiros et al., 2020). Esta función anticonvulsiva depende de manera crítica de los

receptores CB1 localizados en los terminales glutamatérgicos: mediante ratones con deleción condicional se ha demostrado que el CB1 de las neuronas glutamatérgicas (y no el de las interneuronas GABAérgicas) es necesario y suficiente para la protección frente a las crisis inducidas por ácido kaínico (Monory et al., 2006). De manera recíproca, la epilepsia altera el propio SEC, y estas alteraciones son específicas de la región y del síndrome. En la ELT humana con esclerosis hipocampal, el ARNm del receptor CB1 se reduce a alrededor de un tercio de los valores control (una regulación a la baja de carácter transcripcional, y no un mero reflejo de la pérdida neuronal), con una disminución preferente en los terminales glutamatérgicos que respeta los GABAérgicos. En paralelo, la diacilglicerol lipasa α (DGL-α, enzima de síntesis del 2-AG) cae en torno a un 50–60 %, mientras que la FAAH y la MAGL permanecen en gran medida sin cambios (Ludányi et al., 2008). Dado que son precisamente los CB1 glutamatérgicos los que median la protección, esta pérdida selectiva resulta funcionalmente desfavorable. Los niveles de endocannabinoides también se modifican: la anandamida está disminuida en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con ELT recién diagnosticada, en tanto que el 2-AG y el receptor CB1 se elevan tras las crisis agudas, lo que se interpreta como una respuesta protectora endógena (Kwan Cheung et al., 2019). El patrón difiere entre síndromes: en los de Dravet y Lennox-Gastaut, por ejemplo, el CB1 muestra una regulación al alza paradójica (Montebello y Di Giovanni, 2025).

Estas observaciones han consolidado al SEC como diana terapéutica en la epilepsia. El cannabidiol, un fitocannabinoide no psicoactivo de mecanismo múltiple, cuenta ya con aprobación regulatoria para las crisis asociadas a los síndromes de Dravet y de Lennox-Gastaut y al complejo de esclerosis tuberosa (Franco y Peruc-

ca, 2019). Los agonistas directos del receptor CB1, en cambio, aunque anticonvulsivos en numerosos modelos, ven limitada su traslación clínica por sus efectos psicoactivos (Rosenberg et al., 2017).

Una alternativa a los tratamientos enfocados en los receptores CB1 para controlar los ataques epilépticos, consiste en intervenir en la degradación de los endocannabinoides.

2.3.4.2 Macamidas. Aunque la investigación sobre las macamidas y sus efectos en la salud aún se encuentra en etapas preliminares, algunos estudios indican que estos compuestos podrían tener propiedades antioxidantes, neuroprotectoras y adaptogénicas (Castro García, 2021; Ybañez-Julca et al., 2021). Las macamidas también pueden desempeñar un papel en la regulación del sistema endocannabinoide, que controla diversas funciones biológicas, entre ellas el apetito, el sueño y el estado de ánimo.

Las macamidas son un grupo de N-bencilamidas de ácidos grasos de cadena larga, exclusivas de *Lepidium meyenii* Walp. (maca), que actúan como inhibidores de la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) (Alasmari et al., 2019; Nicoara et al., 2025). Dado que la FAAH es la enzima primaria de degradación de la anandamida, su inhibición eleva la disponibilidad de este endocannabinoide y potencia la señalización del sistema endocannabinoide (SEC) de forma indirecta, sin actuar como agonista directo del receptor CB1 (Alasmari et al., 2019; Lu y Mackie, 2016). Esta distinción (realce indirecto frente a agonismo directo) es central para anticipar sus efectos cognitivos. Los agonistas directos de CB1 (p. ej., el Δ9-THC o WIN55,212-2) tienden a deteriorar la plasticidad y la memoria aun cuando reducen las crisis, porque imponen una activación tónica y no contingente de los receptores en cir-

cuitos enteros (Wise et al., 2012; Hasanein y Teimuri Far, 2015). Los inhibidores de FAAH, en cambio, preservan el carácter “a demanda” de la señalización endocannabinoide: amplifican la anandamida solo donde y cuando se libera (en las sinapsis hiperexcitables), de modo que pueden amortiguar la actividad patológica sin silenciar la plasticidad fisiológica. Experimentalmente, el inhibidor URB597 no deteriora la potenciación a largo plazo en tejido sano y restaura la que ha sido alterada por la actividad convulsiva (Colangeli et al., 2017). A ello se suman acciones multimodales (la inhibición de FAAH eleva también congéneres como la PEA y la OEA, con efectos antiinflamatorios y neuroprotectores vía PPARα/TRPV1) que los agonistas directos no reproducen (Nicoara et al., 2025). Este perfil farmacológico (realce endocannabinoide selectivo, con efectos antiinflamatorios y neuroprotectores documentados para las macamidas en modelos de estrés oxidativo, isquemia y neurodegeneración [Gugnani et al., 2018; Yu et al., 2021; Castro García, 2021]) es lo que fundamenta su evaluación como agente neuroprotector frente al deterioro de memoria asociado a la epilepsia, y no como un mero modulador cannabinoide más.

2.3.4.3 Sistema endocannabinoide y memoria. El sistema endocannabinoide (SEC) no actúa de manera uniforme sobre el circuito entorrino-hipocampal, sino de forma específica de vía, en correspondencia con la disociación “qué”/“dónde”. La corteza entorrinal lateral (CEL) (que transmite información de identidad de los estímulos [“qué”] por la vía perforante lateral y constituye, junto con la corteza perirrinal, la corriente ventral del reconocimiento) expresa una forma atípica de potenciación a largo plazo dependiente de endocannabinoides: la señalización retrógrada de 2-araquidonoilglicerol (2-AG) sobre receptores CB1 presinápticos aumenta

(en lugar de reducir) la liberación de glutamato, sosteniendo la codificación del componente de identidad de la memoria episódica (Wang et al., 2016, 2018). De manera congruente con ese papel facilitador, el bloqueo de CB1 antes del entrenamiento deteriora la retención de tareas de discriminación, mientras que el realce del tono endocannabinoide al inhibir su degradación (p. ej., inhibidores de la MAGL) la mejora, y el propio aprendizaje eleva los niveles de 2-AG en el circuito (Wang et al., 2018). Por contraste, en la vía perforante medial (información espacial, “dónde”) el mismo 2-AG/CB1 produce depresión a largo plazo (Peñasco et al., 2019), lo que ilustra que el SEC modula de manera opuesta ambos flujos. En la propia corteza perirrinal (eje del reconocimiento visual) la señalización endocannabinoide contribuye además a la plasticidad sináptica vinculada al reconocimiento (Tamagnini, 2011). En conjunto, esta organización aporta un fundamento de circuito para la presente investigación: dado que el realce indirecto del tono endocannabinoide favorece la plasticidad de la corriente de identidad (CEL/perirrinal), un inhibidor de la FAAH como la macamida (que eleva la anandamida) se sitúa, a nivel mecanístico, para apoyar precisamente el sustrato del reconocimiento de objetos, y no el de la memoria espacial.

2.3.5 Modelos animales de epilepsia y comorbilidades cognitivas

El estudio experimental de la epilepsia y de sus comorbilidades se apoya en modelos animales, principalmente en roedores, indispensables para investigar la epileptogénesis, los mecanismos de las crisis, el cribado de fármacos anticrisis y las comorbilidades asociadas. Ningún modelo reproduce por completo la heterogeneidad de las epilepsias humanas, por lo que su elección depende de la pregunta de investigación (Wang et al., 2022). Los modelos suelen agruparse en varias

categorías: químicos (que incluyen pruebas agudas, como la dosis única de pentilentetrazol [PTZ], y modelos crónicos, como el kindling por PTZ, la pilocarpina y el ácido kaínico), eléctricos (como el electrochoque máximo [MES] y los modelos de kindling eléctrico, por ejemplo el amigdalino), genéticos (cepas con predisposición espontánea a las crisis, como las ratas WAG/Rij y GAERS, o modelos de canalopatías que reproducen el síndrome de Dravet) y modelos de lesión, como los de traumatismo craneoencefálico (Wang et al., 2022).

No todos son igualmente adecuados para el estudio de las comorbilidades cognitivas. Los modelos agudos (como la dosis única de PTZ o el MES) se emplean sobre todo para el cribado del umbral convulsivo y no para el trabajo cognitivo crónico, mientras que los modelos crónicos (kindling por PTZ, pilocarpina y ácido kaínico) sí permiten evaluar la memoria y la conducta afectiva. Ahora bien, la pilocarpina y el ácido kaínico, pese a su fuerte validez aparente para la ELT y a que generan crisis espontáneas, inducen un estado epiléptico (*status epilepticus*) cuya lesión primaria y mayor morbimortalidad confunden la atribución de los déficits cognitivos (Wang et al., 2022).

En este panorama, el kindling por PTZ ocupa una posición ventajosa para el estudio de las comorbilidades cognitivas: es un modelo químico crónico y no invasivo, que no requiere cirugía ni induce un estado epiléptico (con lo que evita el factor de confusión de la lesión aguda) y que, a la vez, reproduce una epileptogénesis progresiva acompañada de gemación de fibras musgosas, estrés oxidativo y neuroinflamación (Reddy et al., 2024). Por ello se ha empleado ampliamente para estudiar el deterioro de la memoria de reconocimiento y espacial y la conducta de tipo depresivo (Zhu et al., 2017b; Lu et al., 2024), aunque su principal limitación es

que produce escasas crisis espontáneas. Estas características fundamentan su elección en el presente trabajo, cuyo procedimiento se detalla a continuación.

2.3.6 Modelo de kindling por pentilentetrazol

Este modelo consiste en inyecciones a dosis subconvulsivantes del fármaco pentilentetrazol. Fue descrito por primera vez por (Mason y Cooper., 1972) quien observó un efecto similar al encontrado por (Goddard et al., 1969), pero generado por la aplicación de pequeñas cantidades (20 mg/kg) de pentilentetrazol a intervalos de 48 horas en ratas Long-Evans de control o con lesiones cerebrales las cuales, de forma progresiva, desarrollaban convulsiones tónico clónicas. El mecanismo neurobiológico del modelo es el del antagonismo a receptores GABA-A presentado por el pentilentetrazol, suprimiendo las sinapsis inhibitorias, lo que provoca una desregulación en el sistema nervioso que desemboca en descargas eléctricas descontroladas y convulsiones (Shimada y Yamagata, 2018). De forma predictiva, los efectos del pentilentetrazol son contrarrestados por medicamentos anti-epilépticos comunes, como el fenobarbital y el ácido valproico (Löscher, 2011). Este modelo brinda ventajas importantes como la baja mortalidad comparativa de sujetos que genera, su confiabilidad, y la posibilidad de realizarlo sin la capacitación y equipamiento altamente especializado que implica el kindling por estimulación eléctrica (Singh et al., 2021). El procedimiento de kindling por pentilentetrazol, en sus distintas variantes, es en la actualidad empleado para modelar la epilepsia del lóbulo temporal, comorbilidades asociadas y el impacto de intervenciones terapéuticas. La elección del kindling por pentilentetrazol (PTZ) responde a un conjunto de ventajas prácticas y de validez. Frente a modelos como la pilocarpina o el ácido kaínico, el PTZ ofrece una mortalidad comparativamente baja, alta confiabilidad y la

posibilidad de inducir epileptogénesis sin el equipamiento ni la capacitación especializada que exige el kindling por estimulación eléctrica, lo que lo ha convertido en una herramienta ampliamente empleada para estudiar la epileptogénesis y sus comorbilidades (Singh et al., 2021; Löscher, 2011). Su mecanismo (antagonismo del receptor GABA-A, con supresión de la inhibición sináptica) produce, mediante administraciones subconvulsivas repetidas, un descenso progresivo del umbral convulsivo (Shimada y Yamagata, 2018).

Es preciso, no obstante, delimitar su validez de constructo. El kindling por PTZ recapitula mejor la epilepsia generalizada (con crisis mioclónicas y tónico-clónicas generalizadas) que la epilepsia focal del lóbulo temporal, para la cual los modelos de ácido kaínico, pilocarpina o kindling eléctrico amigdalino/hipocampal resultan más apropiados (Jiji et al., 2025; Shimada y Yamagata, 2018). Aun así, el modelo conserva relevancia para el estudio de las comorbilidades cognitivas de la epilepsia: puede inducir alteraciones histopatológicas afines a la epilepsia del lóbulo temporal (brote de fibras musgosas, gliosis, pérdida neuronal hipocampal) y, sobre todo, su proceso de generalización recluta de manera prominente la circuitería límbica perirrinal/parahipocampal (McIntyre y Gilby, 2008), implicada tanto en la propagación de las crisis como en la memoria de reconocimiento. Esta característica lo hace pertinente para examinar el impacto de la epileptogénesis sobre dominios mnésicos dependientes de dichas estructuras y el efecto de intervenciones terapéuticas.

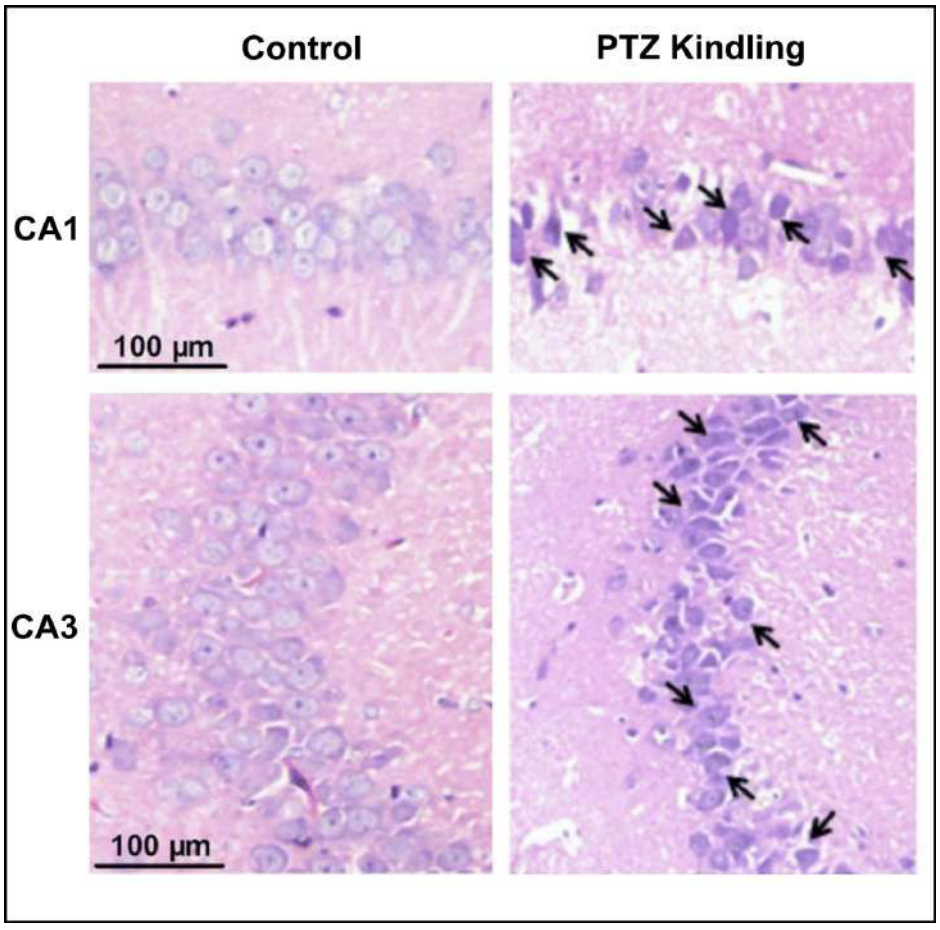
Más allá del fenotipo convulsivo, el kindling por PTZ induce comorbilidades cognitivas, entre las cuales el deterioro de la memoria de reconocimiento es uno de los hallazgos más consistentes. En la prueba de reconocimiento de objetos no-

vedosos, los roedores kindleados fracasan en discriminar el objeto novedoso del familiar (llegando incluso a índices de discriminación negativos) en comparación con controles (Perveen et al., 2024; Zhu et al., 2017b). Este déficit se ha vinculado a una cascada multifactorial centrada en el hipocampo: estrés oxidativo dependiente de la óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS) con activación de las vías MAPK y PI3K/AKT (los ratones nNOS-nulos quedan protegidos del déficit) (Zhu et al., 2017b), neuroinflamación por la vía TLR4/NF-κB con elevación de IL-1β, IL-6 y TNF-α (Lu et al., 2024), reactividad astroglial que desplaza el balance excitación/inhibición, deterioro de la potenciación a largo plazo y reducción de la neurogénesis. La reversibilidad parcial del déficit mediante diversas intervenciones (p. ej., antagonismo AMPA con perampanel, agentes antioxidantes y antiinflamatorios) confirma el carácter causal de estas vías (Perveen et al., 2024; Lu et al., 2024). De interés para el presente trabajo, este déficit de reconocimiento es sensible a la manipulación cannabinoide en una dirección coherente con el fundamento aquí planteado: la administración crónica de cannabidiol a dosis alta agravó el déficit de reconocimiento en ratas kindleadas (Gáll et al., 2022), lo que subraya que la acción cannabinoide directa puede empeorar (y no proteger) esta comorbilidad. El efecto del kindling por PTZ sobre la memoria espacial, en cambio, aunque también frecuentemente reportado (latencias de escape prolongadas en el laberinto acuático de Morris y menor alternancia en los laberintos en Y o en T; Lu et al., 2024; Perveen et al., 2024), resulta notablemente inconsistente entre estudios. Diversas variables moderan su aparición: (a) el momento de la evaluación (Kalinina et al. [2022] no hallaron deterioro espacial/exploratorio 24 horas después de la última dosis de PTZ pese a cambios moleculares [regulación a la baja de genes de

expresión temprana], y los déficits conductuales emergieron solo semanas más tarde); (b) la sensibilidad de la prueba (el laberinto acuático de Morris, acuático y estresante, detecta el deterioro de forma más robusta que los paradigmas secos y de menor demanda); (c) el sexo (la susceptibilidad al kindling y el desenlace cognitivo pueden disociarse entre machos y hembras [Pollo et al., 2022; Sahin et al., 2022]); y (d) la dosis y la edad. A ello se suma la dificultad, propia de los modelos crónicos, de atribuir los déficits a la actividad anómala en curso frente a las reorganizaciones de red instaladas durante la inducción (Landi et al., 2019). Esta asimetría (un deterioro del reconocimiento robusto y mecanísticamente caracterizado, junto a un fenotipo espacial heterogéneo y dependiente de las condiciones) constituye el trasfondo sobre el cual el presente estudio evalúa ambos dominios.

Figura 10

Efectos del kindling por PTZ en el daño neuronal en el hipocampo

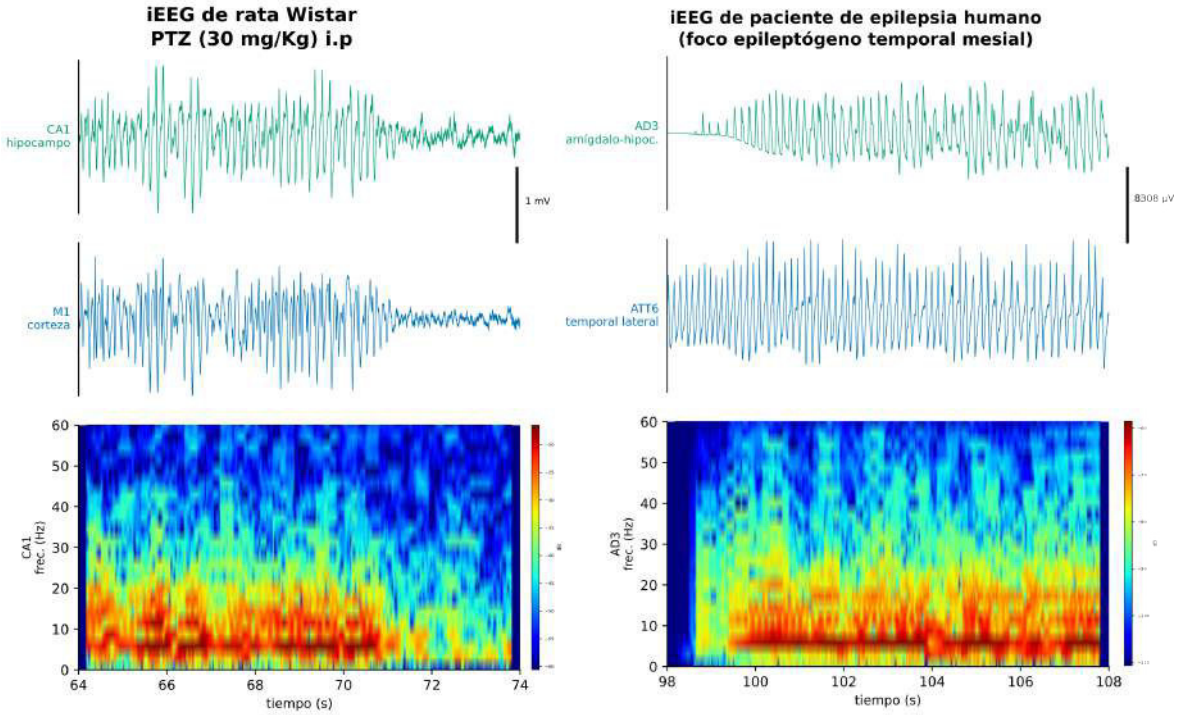


Nota. Micrografías representativas de cortes del hipocampo de ratas, sometidas a una tinción de HyE que revela de forma indirecta daño neuronal. Proviene de un estudio en el que se realizó un protocolo de kindling de 29 días, con un intervalo de 48 horas y una dosis de 35 mg/kg. Reproducido de Gao et al. (2018). Licencia CC 4.0 BY.

2.3.6.1 Validez del modelo de kindling por pentilentetrazol. Como todo modelo animal, la adecuación del kindling por PTZ para representar la epilepsia humana se valora a través de distintas formas de validez. En cuanto a su validez aparente (*face validity*), el modelo reproduce el carácter progresivo de la epileptogénesis, pues las inyecciones subconvulsivas repetidas generan crisis de gravedad creciente (con menor latencia y mayor duración a lo largo de las sesiones), cuya severidad se cuantifica con escalas de tipo Racine (Racine, 1972; Monteiro et al., 2024). Además, las alteraciones histopatológicas de los animales kindleados (gemación de fibras musgosas, astrogliosis, muerte neuronal hipocampal y esclerosis hipocampal) se asemejan a las observadas en los pacientes y, de especial relevancia para el presente trabajo, el modelo reproduce también las comorbilidades conductuales y cognitivas propias de la epilepsia humana, como los déficits de aprendizaje y memoria y la conducta de tipo ansioso (Zhu et al., 2017b; Mortazavi et al., 2005). En el plano electrográfico, la actividad ictal del modelo reproduce el patrón de la epilepsia del lóbulo temporal humana: en ambas especies, el foco hipocampal o temporal-mesial exhibe descargas rítmicas de punta-onda con un incremento de la potencia ictal en las bajas frecuencias (Figura 11). Su principal limitación en este plano es la escasa aparición de crisis espontáneas recurrentes (un rasgo definitorio de la epilepsia) y el que a menudo no se acompañe de registro electroencefalográfico.

Figura 11

Comparación de la actividad ictal entre el modelo de PTZ y un paciente con epilepsia del lóbulo temporal



Nota. La figura contrasta la actividad ictal del modelo animal y la de un paciente humano como base de la validez aparente (*face validity*) del modelo de PTZ para la epilepsia del lóbulo temporal (ELT). Izquierda (rata): modelo de pentilentetrazol en ratas Wistar (30 mg/kg, i.p.), con registro iEEG del hipocampo CA1 (verde) y de la corteza motora primaria M1 (azul). La dosis subconvulsiva induce descargas de punta-onda que reproducen las crisis límbicas humanas. Derecha (humano): crisis del lóbulo temporal mesial registrada por iEEG (paciente sub-pt01 del conjunto de datos multicéntrico ds003029), con inicio electrográfico en los contactos amígdalo-hipocampales (AD3, verde) y un contacto temporal lateral (ATT6, azul). El paciente quedó libre de crisis tras la resección (Engel I), lo que confirma el foco temporal mesial. En ambas especies, el foco hipocampal o temporal-mesial (verde) presenta descargas rítmicas y un aumento de la potencia ictal en las bajas frecuencias (espectrograma inferior). Las señales se procesaron con un filtro pasa-altas de 1 Hz y un filtro de red (50 Hz en la rata, 60 Hz en el humano). Elaboración propia a partir de datos de libre acceso de Ghanaei y Erfanian (2025) y Li et al. (2020).

Respecto a la validez de constructo, el PTZ actúa como antagonista del receptor GABA-A, con lo que reproduce de forma directa el déficit de la inhibición GABAérgica implicado en muchas epilepsias humanas. Más aún, el modelo induce cambios neurobiológicos que trascienden el bloqueo farmacológico agudo (reducción del GABA cerebral, sobreactivación glutamatérgica con desequilibrio entre exci-

tación e inhibición, astrogliosis, estrés oxidativo y neurodegeneración apoptótica en el hipocampo y la corteza prefrontal), los cuales remedan rasgos patológicos de la epilepsia humana (Monteiro et al., 2024; Zhu et al., 2017a). Su limitación es que las crisis se desencadenan mediante un disparador farmacológico artificial y no mediante las diversas etiologías (genéticas, traumáticas o estructurales) de la epilepsia humana, y que su mecanismo iniciador (la disinhibición GABAérgica) es relativamente estrecho.

Por último, en cuanto a su validez predictiva, el paradigma de kindling se considera un estándar para el cribado de fármacos antiepilépticos (está recomendado por los programas de cribado de los NIH/NINDS) y la respuesta de los animales kindleados predice de manera fiable la eficacia clínica, e incluso permite modelar la farmacorresistencia (Reddy et al., 2024). Sus límites son que la predicción no es uniforme para todos los tipos de crisis y que los efectos de un fármaco sobre la progresión del kindling pueden diferir de sus efectos sobre las crisis espontáneas. En conjunto, estas propiedades sustentan el empleo del kindling por PTZ en el presente trabajo, tanto para inducir la epileptogénesis como para estudiar sus comorbilidades de memoria.

2.3.7 Enfoques basados en deep learning para el estudio de la conducta

La cuantificación de la conducta es central para la neurociencia experimental, pero durante décadas dependió del registro manual por observadores entrenados, un procedimiento lento, subjetivo, susceptible a la deriva del observador y a una baja fiabilidad entre evaluadores, y limitado en la granularidad de las características conductuales que podía capturar. Las soluciones comerciales de seguimiento, por su parte, solían reducir la conducta a las trayectorias del centro de masa del ani-

mal, perdiendo la postura y la cinemática finas (Sturman et al., 2020). La aparición de la estimación de poses sin marcadores (*markerless pose estimation*) basada en *deep learning* transformó este panorama, al permitir una cuantificación automatizada, objetiva, de alto rendimiento y de gran resolución, sin necesidad de colocar marcadores físicos sobre el animal (Mathis et al., 2018; Sturman et al., 2020). Estas herramientas ofrecen varias ventajas sobre el registro tradicional. Alcanzan una exactitud de nivel humano en la localización de las partes del cuerpo. Procesan cientos o miles de fotogramas por segundo, lo que transforma la lenta anotación manual en un análisis de alto rendimiento. Reducen el sesgo del observador y mejoran la reproducibilidad, pues, una vez entrenado, el modelo puntúa de manera consistente. Por último, amplían el alcance del análisis, desde simples trayectorias hasta la postura, la cinemática y las interacciones sociales (Sturman et al., 2020). Además, gracias al aprendizaje por transferencia requieren relativamente pocos fotogramas etiquetados para su entrenamiento, y su carácter abierto ha extendido su adopción más allá de los laboratorios especializados en visión por computadora (Mathis et al., 2018). En la práctica, el flujo de trabajo suele organizarse en dos etapas: primero se estiman las poses (las coordenadas de las partes del cuerpo a lo largo del video) y, a partir de ellas, se clasifican o cuantifican las conductas de interés. El presente trabajo se apoyó en esta lógica de dos etapas, empleando DeepLabCut para la estimación de poses y SimBA para el análisis conductual posterior.

2.3.7.1 DeepLabCut. DeepLabCut es una caja de herramientas de código abierto para la estimación de poses sin marcadores, introducida por Mathis et al. (2018), que ha transformado la cuantificación de la conducta animal. Emplea

aprendizaje por transferencia sobre redes neuronales residuales profundas (ResNet) preentrenadas en el conjunto de imágenes ImageNet para rastrear, a partir de grabaciones de video, las partes del cuerpo que el investigador define. Su flujo de trabajo consiste en extraer fotogramas representativos del video, etiquetar manualmente en ellos las partes del cuerpo de interés, entrenar la red y, por último, aplicar el modelo entrenado para estimar de forma automática las coordenadas de esas partes en videos nuevos. Para cada una genera un mapa de probabilidad que aporta una medida de confianza y permite detectar oclusiones o predicciones poco fiables (Mathis et al., 2018). Una característica decisiva es su eficiencia de datos: alcanza una exactitud comparable a la del etiquetado humano con apenas 50 a 200 fotogramas etiquetados, frente a las decenas de miles que requieren otros métodos.

Frente a los enfoques tradicionales, DeepLabCut prescinde de marcadores físicos (intrusivos, sobre todo en especies pequeñas) y permite decidir qué partes del cuerpo analizar después de la grabación. En comparaciones directas con soluciones comerciales como EthoVision, ambos sistemas producen medidas básicas equivalentes (velocidad, distancia total recorrida), pero DeepLabCut permite además detectar de forma automática conductas más complejas (como el enderezamiento o la introducción de la cabeza en los agujeros) que antes exigían una laboriosa puntuación manual, con mayor transparencia metodológica y menor costo (Sturman et al., 2020). Por estas razones se ha consolidado como un estándar en la investigación de la conducta y fue la herramienta escogida en el presente trabajo para la estimación de poses en las pruebas comportamentales.

2.3.7.2 SimBA. Mientras que DeepLabCut resuelve la primera etapa (estimar las poses), SimBA (*Simple Behavioral Analysis*) aborda la segunda: la clasificación de las conductas a partir de esas poses. Es una herramienta de código abierto de aprendizaje automático que toma los datos de estimación de poses (de DeepLabCut u otras herramientas) y, mediante algoritmos de aprendizaje supervisado (principalmente bosques aleatorios [*random forests*]) entrenados sobre ejemplos anotados por el investigador, genera clasificadores capaces de detectar conductas complejas, sociales y no sociales, con una resolución temporal y una exactitud que igualan o superan a las de los observadores humanos (Goodwin et al., 2024). A partir de las coordenadas de las partes del cuerpo, SimBA construye un amplio conjunto de características (distancias, desplazamientos, ángulos, áreas y trayectorias calculados sobre ventanas temporales móviles) que alimentan a dichos clasificadores, e incorpora herramientas de corrección de valores atípicos, de validación y de explicabilidad (por ejemplo, valores SHAP) que permiten conocer qué características determinan sus decisiones. Su interfaz gráfica, que no requiere programación, ha reducido una barrera importante para la adopción del aprendizaje automático en los laboratorios de conducta (Goodwin et al., 2024).

Diversos estudios independientes han validado sus resultados frente a la puntuación manual, con correlaciones altas (por ejemplo, coeficientes de 0.81 a 0.95 en el análisis etológico del miedo en ratas) e incluso con desempeños superiores a los de algunos sistemas comerciales (Goodwin et al., 2024). En el presente trabajo, SimBA se empleó en esta segunda etapa del análisis, a partir de las poses estimadas con DeepLabCut, para la cuantificación conductual en las pruebas comportamentales.

2.4 Planteamiento de hipótesis

2.4.1 Hipótesis general

La administración de macamida puede aliviar las alteraciones en la memoria asociadas con el modelo de epilepsia inducido por pentilentetrazol (PTZ).

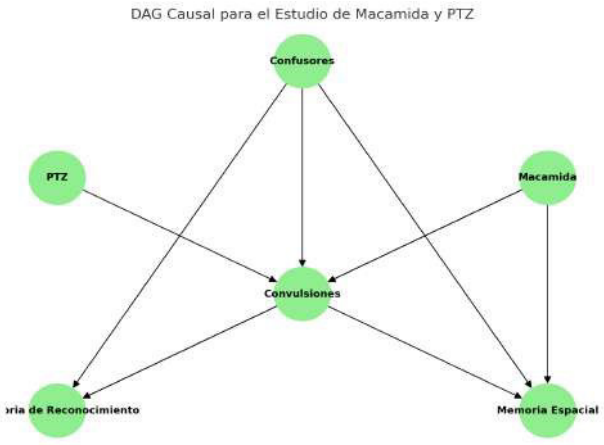
2.4.2 Hipótesis específicas

La administración de macamida puede aliviar las alteraciones en la memoria espacial asociada con el modelo de epilepsia inducido por pentilentetrazol (PTZ).

La administración de macamida puede aliviar las alteraciones en la memoria de reconocimiento asociada con el modelo de epilepsia inducido por pentilentetrazol (PTZ).

Figura 12

Relaciones causales entre las variables del estudio



Nota. Los confusores o variables de confusión incluyen tanto variables de confusión controladas (que se mencionan en la Sección 3.7) como no controladas.

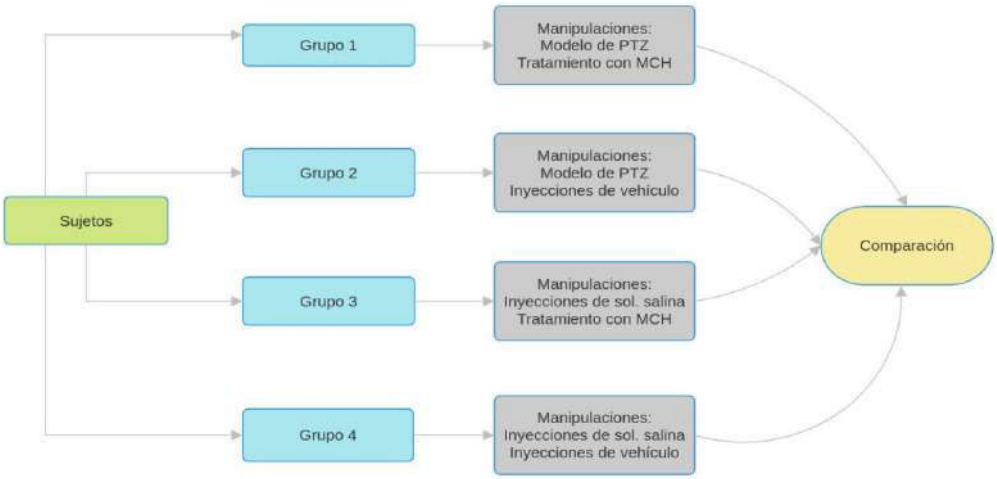
3 METODOLOGÍA

3.1 Diseño experimental

3.1.1 Tipo y diseño de investigación

Este trabajo presenta un estudio experimental en el que se manipulan las variables independientes de kindling y tratamiento con macamidas en un modelo experimental para evaluar el papel de dicha manipulación en las variables dependientes (memoria espacial y de reconocimiento). Otra característica de su diseño es que es transversal, lo cual quiere decir que la recogida fue en un solo momento (después de la manipulación, post-test), y las comparaciones son a nivel de grupos y no de momentos.

Figura 13
Esquema de diseño experimental con manipulaciones por grupo



3.1.2 Unidad de análisis

La unidad de análisis de la presente investigación está compuesta por 31 ratas macho (Rattus norvegicus doméstica, variedad *Sprague-Dawley*), de cinco sema-

nas de edad, provenientes del bioterio automatizado de la Universidad Andina del Cusco. Los animales pertenecen a una línea no endogámica y, hasta el inicio de los procedimientos de kindling y de evaluación conductual, no habían sido expuestos a manipulaciones experimentales previas.

3.1.3 Cálculo de muestra

En el cálculo de muestra se consultó literatura previa para obtener tamaños de efecto y se empleó un análisis de potencia estadística.

Zare et al. (2024) y Dyomina et al. (2023) reportan resultados como estadísticos de la prueba F y grados de libertad en el análisis de varianza, los cuales se pueden convertir al tamaño de efecto η^2 del modo que señala Lakens (2013):

$$\eta^2 = \frac{F \times df_{efecto}}{F \times df_{efecto} + df_{error}} \tag{1}$$

En este caso se usará $\eta^2 = 0.552$ para el laberinto de Barnes, por ser el valor más conservador y ser el estudio de Dyomina et al. (2023) el más estrechamente relacionado con el presente trabajo, el cual adapta su protocolo.

Tabla 1

Tamaños de efecto encontrados en la literatura para el laberinto de Barnes

Publicación	Parámetro primario	Prueba estadística	Parametros de prueba estadísti-ca	Limite p	Interpretación de resultados	Tamaño de efecto calculado (η^2)
(Zare et al., 2024)	Latencia de escape	ANOVA	F(3,24) = 11.67	p < 0.001	Diferencias significati-vas entre grupo control y tratamien-to (modelo de pilo-carpina)	0.593

Publicación	Parámetro primario	Prueba estadística	Parametros de prueba estadísti-ca	Limite p	Interpretación de resultados	Tamaño de efecto calculado (η^2)
(Dyomina et al., 2023)	Latencia de escape	ANOVA	F(1,17) = 21	p < 0.001	Diferencias significati-vas entre grupo control y tratamien-to (modelo de pilo-carpina)	0.552

Se calculó el tamaño de efecto para los resultados de la evaluación de la memoria de NOR a 24 horas llevada a cabo en ratas sometidas a un modelo de pilocarpina y en ratas controles, a partir de Jiang et al. (2018), tomando como base el estadístico t y los tamaños de muestra de los grupos control y tratamiento reportados, y siguiendo el procedimiento descrito en (Lakens, 2013), el cual relaciona directamente estos parámetros y la d de Cohen:

$$d_s = t \times \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} \quad (2)$$

Tabla 2
Tamaños de efecto encontrados en la literatura para la prueba NOR

Publicación	Parámetro primario	Prueba estadística	Parametros de prueba estadística	Limite α	Interpretación de resultados	Tamaño de efecto calculado (d)
(Jiang et al., 2018)	Tasa de exploración	t de Student	t = 15.24	p < 0.001	Diferencias significativas entre grupo control y tratamiento (modelo de pilocarpina)	7.002

Este es uno de los estudios encontrados en la búsqueda que sigue un protocolo similar al usado en el presente trabajo (NOR, con una separación de 24 horas entre la exposición a objetos familiares y el objeto novedoso), y dentro de este subcon-

junto, el único estudio que reportó resultados de pruebas estadísticas, además de estadísticos descriptivos (incompletos en otros estudios), información que permitió el cálculo del tamaño de efecto. En conclusión, se tomará d = 7.002.

Para el siguiente análisis de potencia (y otros análisis estadísticos en este trabajo) se usará el lenguaje R (R Core Team, 2024) el cual presenta la ventaja de tener licencia libre y ser gratuito, factor que, sumado a otros como la descripción completa de procedimientos, aporta a la replicabilidad de los estudios. En esta sección en específico se usarán las bibliotecas Ben-Shachar et al. (2020) y pwr (Champely et al., 2017).

Para empezar, el cálculo del tamaño de muestra por grupo mediante la biblioteca pwr requiere tres parámetros: k, que es el número de grupos, los cuales son 4 en el presente trabajo; sig. level, que es el nivel de significancia, establecido en 0.001 para ambas pruebas, como es el más usado en la literatura (ver tablas 1 y 2); power, que es la potencia estadística para la cual se usará el valor 0.80, como es el más recomendado en la literatura; y finalmente f que es el tamaño de efecto.

Sin embargo, la función específica que realiza el análisis de potencia para pruebas ANOVA (que se planea usar en el presente trabajo) recibe tamaños de efecto expresados como f de Cohen, diferentes al calculado y mostrado en la Tabla 1 (η2). Entonces se requiere funciones de conversión entre tipos de tamaños de efecto las cuales son provistas por la biblioteca *effectsize*.

En el caso de la d de Cohen de la Tabla 2, en la literatura se estableció la siguiente simple relación (Cohen, 1977, p. 256)

$$f = d \times \frac{1}{2} \tag{3}$$

Las instrucciones en el lenguaje R para el procedimiento antes descrito se muestran en el correspondiente apéndice.

Finalmente, los parámetros y resultados de las anteriores instrucciones se consolidan en el siguiente cuadro:

Tabla 3
Resultados de los análisis de potencia estadística, por prueba

Prueba comportamental	Grupos (*k*)	Significancia	Potencia	Tamaño de efecto (*f*)	Tamaño de muestra por grupo (*n*)
Laberinto de Barnes	4	0.001	0.80	1.110	6.455
NOR	4	0.001	0.80	3.501	2.394

Como se puede observar, el análisis de potencia sugiere un tamaño de muestra de al menos 7 sujetos por grupo (redondeando al alza el valor de 6.455, para no perder potencia, y tomando como referencia el mayor valor obtenido, el del análisis con el tamaño de efecto del estudio del laberinto de Barnes).

3.2 Generación de modelo de epilepsia del lóbulo temporal

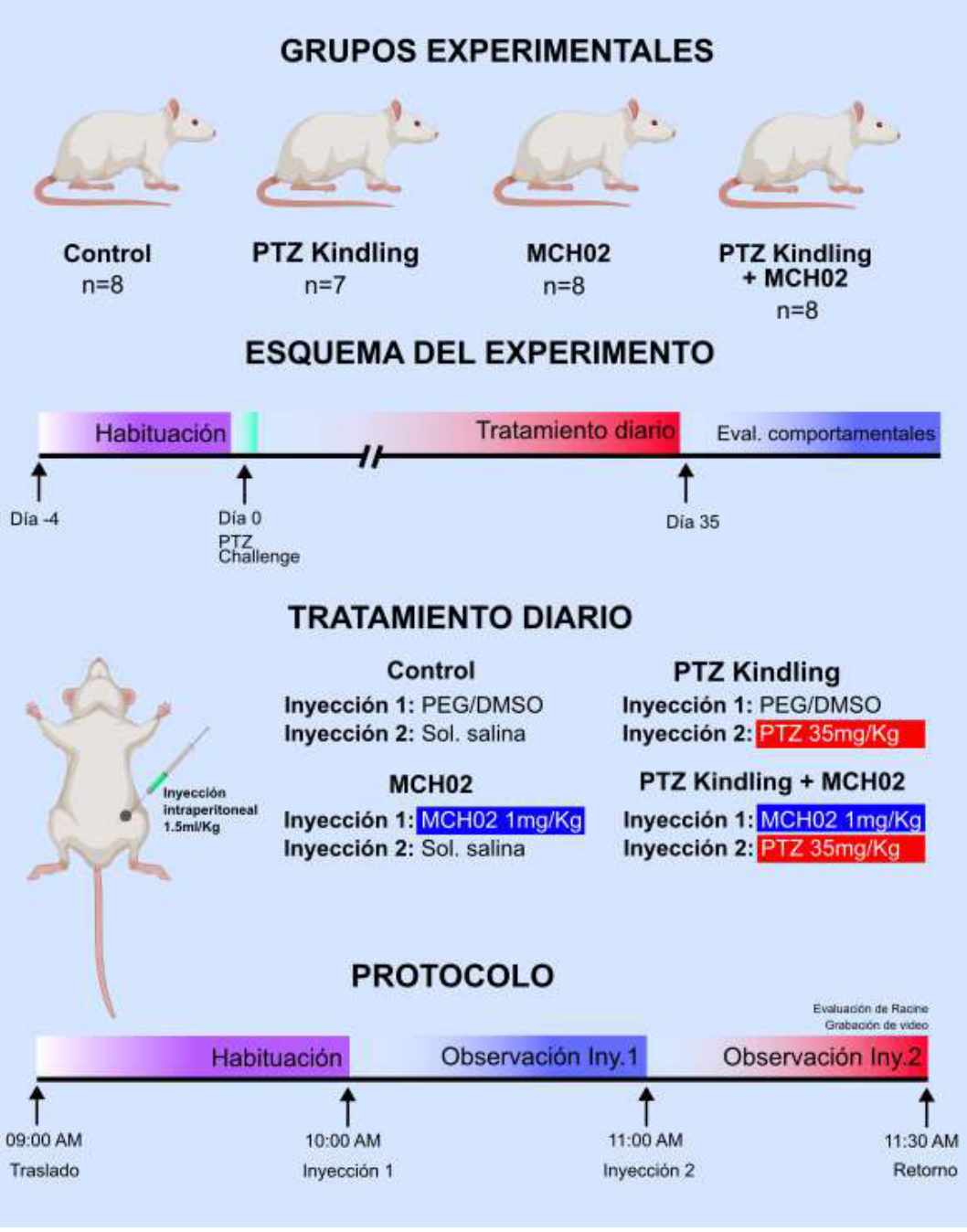
3.2.1 Modelo de kindling por pentilentetrazol

En el presente trabajo se utilizó un modelo de epilepsia inducida por pentilentetrazol de kindling. Para preparar el pentilentetrazol, se disolvió en solución salina (NaCl al 0,9 % en agua). La preparación del fármaco y su administración por in-

yección se realizaron en condiciones estériles. El procedimiento completo duró 40 días. Todo el proceso se llevó a cabo en los ambientes del bioterio automatizado de la Universidad Andina del Cusco.

Figura 14

Resumen de procedimientos experimentales



3.3 Tratamientos experimentales

3.3.1 Habituación

La primera etapa consistió en dos sesiones en las que los sujetos se habituaron al ambiente y a la administración de inyecciones. El proceso de habituación fue el siguiente: Se realizó el pesado de los sujetos, y seguidamente se transportaron sus cajas de la sala de estabulación a la sala del procedimiento que fue previamente acondicionada para la sesión (temperatura en el rango de 20-23 ºC, humedad en el rango 40-60%). Una vez en la sala, se dejaron las cajas en reposo por un periodo de 2 horas. Luego se aplicaron inyecciones de solución salina a todos los sujetos en un volumen correspondiente a su peso (1.5ml/Kg).

3.3.2 PTZ challenge

Luego de la habituación, se realizó el desafío PTZ, una sesión en la que se aplicó una dosis convulsivante de pentilentetrazol (60 mg/kg) a las ratas. El procedimiento consistió en lo siguiente: se realizó el pesaje de los sujetos y, seguidamente, se transportaron sus cajas desde la sala de estabulación a la sala del procedimiento, que fue previamente acondicionada para la sesión (temperatura en el rango de 20-23 ºC, humedad en el rango del 40-60%). Una vez en la sala, se dejaron las cajas durante un período de 1 hora. Al final de este período, se procedió a la aplicación del fármaco en los grupos correspondientes. La aplicación se realizó por la vía intraperitoneal, en condiciones estériles. Inmediatamente después de la aplicación del fármaco a cada sujeto, este fue colocado en una caja individual para ser observado y evaluado mediante la escala de Racine. Se registró la actividad del sujeto por video. Este registro y evaluación se llevaron a cabo durante un período

de 30 minutos por cada sujeto. A continuación, se administraron inyecciones de solución salina a los sujetos de control y, de manera similar, se les colocó en cajas individuales. Sin embargo, este último paso no se registró en video.

3.3.3 Kindling por pentilentetrazol

Luego de 48 horas del PTZ challenge, se realizó la primera de diecisiete sesiones de kindling por pentilentetrazol. Cada sesión tuvo el siguiente procedimiento: Se realizó el pesado de los sujetos, y seguidamente se transportaron sus cajas de la sala de estabulación a la sala del procedimiento que fue previamente acondicionada para la sesión (temperatura en el rango de 20-23 ºC, humedad en el rango 40-60%). Una vez en la sala, se dejaron las cajas por un periodo de 1 hora. Al final de dicha hora se procedió a aplicar macamida o vehículo a los grupos correspondientes. Se registró la hora de cada inyección. Exactamente una hora de las inyecciones de macamida se aplicó pentilentetrazol a una dosis de 35 mg/kg a los grupos del modelo. Inmediatamente luego de la aplicación del fármaco en un sujeto, este se ubicó en una caja individual para ser observado, y evaluado mediante la escala Racine. Se registró la actividad del sujeto por video. Este registro y evaluación se realizó por un periodo de 30 minutos por sujeto. A continuación, se administraron inyecciones de solución salina a los sujetos de control y, similarmente, se les ubicó en cajas individuales. Este último paso se registró en video al inicio, a la mitad y al final de los diecisiete días.

3.3.4 Tratamiento con macamida

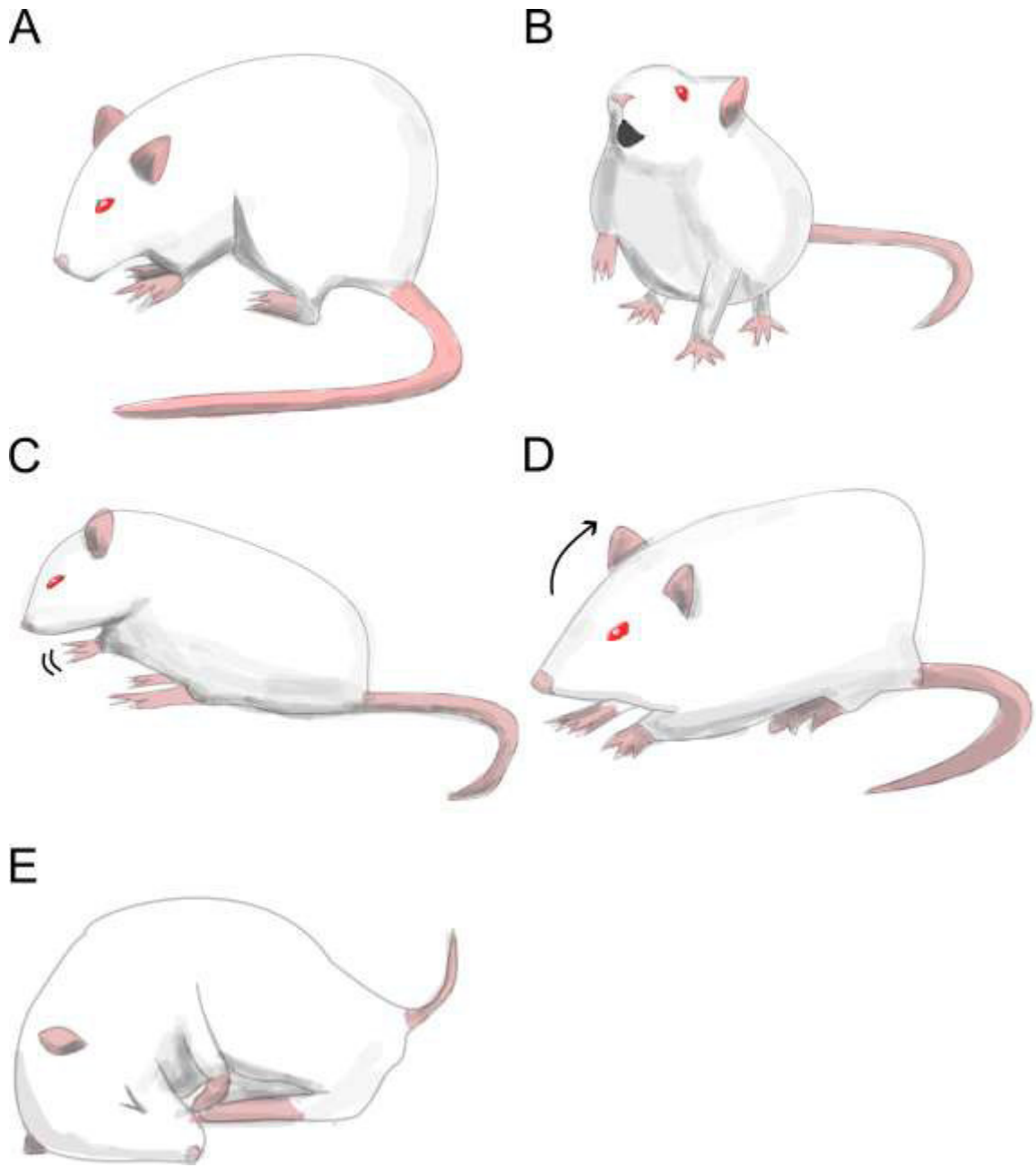
El tratamiento con macamida, con el motivo de evaluar su potencial terapéutico, se realizó una hora antes del procedimiento por kindling con pentilentetrazol. Consistió en una inyección intraperitoneal de macamida (MCH02) a una dosis de 1

mg/kg de peso, administrada en el mismo volumen de inyección que el empleado para el pentilentetrazol. La macamida se disolvió en un vehículo compuesto por PEG-DMSO (empleado con frecuencia como vehículo de sustancias oleosas) y agua Milli-Q (agua filtrada y libre de nanopartículas y patógenos), en una proporción de 1:9 (PEG-DMSO:agua).

3.3.5 Evaluación con la escala de Racine

La escala de Racine es una escala semicuantitativa que fue desarrollada inicialmente para evaluar las manifestaciones comportamentales del kindling inducido por estimulación eléctrica de la amígdala (Racine, 1972). Asigna un valor de severidad basado en las manifestaciones progresivas de crisis convulsivas y no convulsivas. En este caso, se usará la siguiente escala adaptada de He et al. (2021): 1: Inmovilidad con falta de respuesta (Figura 15A); 2: Espasmos faciales (Figura 15B); 3: Espasmos de cuello (agitación y asentimiento) y espasmos de patas delanteras (Figura 15C); 4: Crisis tónica o clónica (Figura 15D); 5: Crisis tónico-clónica con pérdida de equilibrio y saltos (Figura 15E). Esta escala se usará con el fin de determinar si las ratas alcanzaron el criterio de kindling (crisis de nivel 4 en dos sesiones consecutivas) y para comparación entre grupos. La observación se realizó en vivo por dos observadores expertos, separados de los sujetos por una cortina, a través de una cámara (Figura 16).

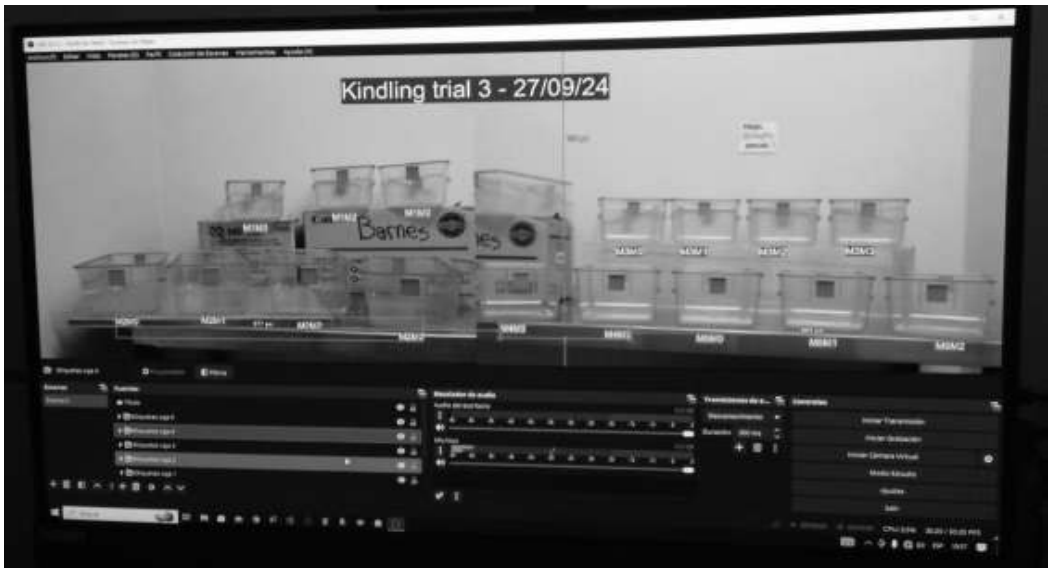
Figura 15
Manifestaciones comportamentales de la escala de Racine



Nota. No se ilustraron comportamientos de algunas categorías como los espasmos de cabeza (Racine 3). Elaboración propia

Figura 16

Monitoreo y grabación de manifestaciones comportamentales



Nota. En pantalla aparece el software OBS Studio para la grabación de video con etiquetas. Esta fotografía es previa a posicionar las ratas en las cajas transparentes por ese motivo no se puede apreciar los animales.

3.3.6 Inyecciones de vehículo (PEG-DMSO) y solución salina

Las inyecciones de vehículo (PEG-DMSO y agua Milli-Q, 1:9) y solución salina (NaCl en agua al 0.9%) fueron administradas con el objetivo de controlar variables como el efecto estresante de las sesiones, y algún efecto que podría tener las inyecciones repetidas de vehículo en los sujetos, pero no se espera un efecto en las variables estudiadas, por lo cual los grupos de estos pueden considerarse de control.

3.4 Evaluaciones comportamentales

3.4.1 Pruebas piloto y estandarización

De forma previa al procedimiento de kindling y las evaluaciones comportamentales que le suceden, y con sujetos ingenuos experimentalmente y distintos a los incluidos en el presente trabajo, se realizaron pruebas piloto. En el caso de la prueba de reconocimiento de objetos novedosos, para comprobar una preferencia por el

objeto novedoso, y en el caso del laberinto de Barnes, curvas de aprendizaje. Y en ambos casos, para estandarizar los procedimientos y redactar dos documentos de protocolo, anexos al presente trabajo.

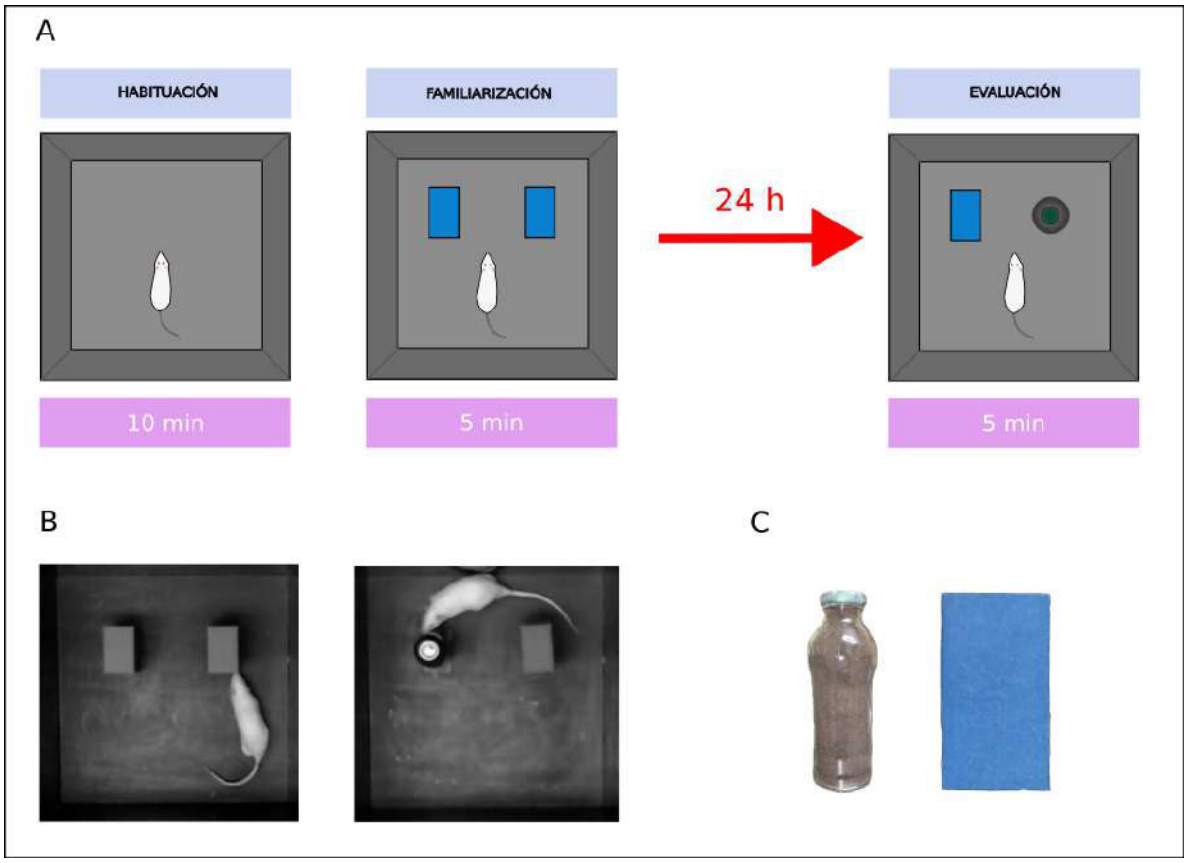
3.4.2 Prueba de reconocimiento de objetos novedosos

Se llevó a cabo 24 horas luego de la última sesión de kindling. Tuvo una duración de dos días, en las que se hizo tres procedimientos por cada sujeto. El protocolo de la prueba está basado en el usado por Gáll et al. (2022), quienes investigaron los efectos del cannabidiol, un fitocannabinoide, en ratas tratadas con un modelo de epilepsia por kindling por pentilentetrazol. Dicho procedimiento se detalla a profundidad en el protocolo de reconocimiento de objetos novedosos anexo al presente trabajo. Sin embargo, se ofrece una descripción con detalles claves acerca de cómo se realizó el procedimiento en esta sección:

El aparato utilizado para la prueba es una caja opaca de acrílico de 55 cm x 55 cm. Se acondicionó la habitación a una temperatura de 20 a 23 °C antes de cada sesión, durante todos los procedimientos. En todos los ensayos, una vez liberada la rata, se aisló el aparato y el sujeto del resto de la habitación y las personas presentes, mediante cortinas. El primer día se realizaron las sesiones de habituación y familiarización, una inmediatamente después de la otra. Se empezó extrayendo al sujeto de su caja, colocándolo en una caja individual y trasladándolo de la sala de estabulación a la sala de evaluación. Inmediatamente, se colocó a la rata en la arena para comenzar el proceso de habituación que duró 10 minutos, y consistió simplemente en permitir que la rata explore la arena vacía. Seguidamente, se retiró a la rata, se le devolvió a su caja individual y se limpió la arena con alcohol al 96% para eliminar cualquier olor o restos que la rata haya dejado en ella. Tras

la evaporación del alcohol, se colocaron dos objetos idénticos en la arena en una posición constante para todos los sujetos, y se reintrodujo a la rata en la arena para comenzar la fase de familiarización, que duró 5 minutos. Se dejó que el sujeto explorara libremente la arena y los objetos durante este periodo. Tras finalizar, se devolvió la rata a su caja individual y fue trasladada a la sala de estabulación, donde volvió a su caja grupal. Se repitió el mismo procedimiento con todos los sujetos, limpiando la arena con alcohol al 96% entre cada uno. Exactamente 24 horas después del inicio del procedimiento de familiarización en cada sujeto, se realizó la evaluación, que es similar al procedimiento de familiarización, pero en este caso se reemplazó uno de los objetos similares por uno novedoso. Se grabaron videos de las fases de familiarización y evaluación de cada sujeto para su análisis posterior. El procedimiento se resume en el siguiente esquema:

Figura 17
Esquema de la prueba NOR.



Nota. A. Fases de la prueba. B. Fotografías del procedimiento realizado en este trabajo. A la izquierda se puede notar al sujeto apuntando con la nariz uno de los objetos idénticos en la fase de familiarización. A la derecha se puede notar al sujeto apuntando con la nariz el objeto novedoso. C. Los objetos usados en la prueba. Uno de los objetos idénticos a la izquierda y el objeto novedoso a la derecha. Elaboración propia.

En el pipeline de análisis (DeepLabCut y SimBA) se definió la exploración de un objeto cuando la punta de la nariz de la rata está a menos de 1 cm y apuntando al objeto. El parámetro primario de esta prueba es el índice de reconocimiento, el cual se calcula tomando el tiempo de exploración total de cada objeto en la fase de evaluación mediante la siguiente fórmula.

$$ID = \frac{TN}{TN + TF} \tag{4}$$

Donde ID es el índice de reconocimiento, TN el tiempo total de exploración del

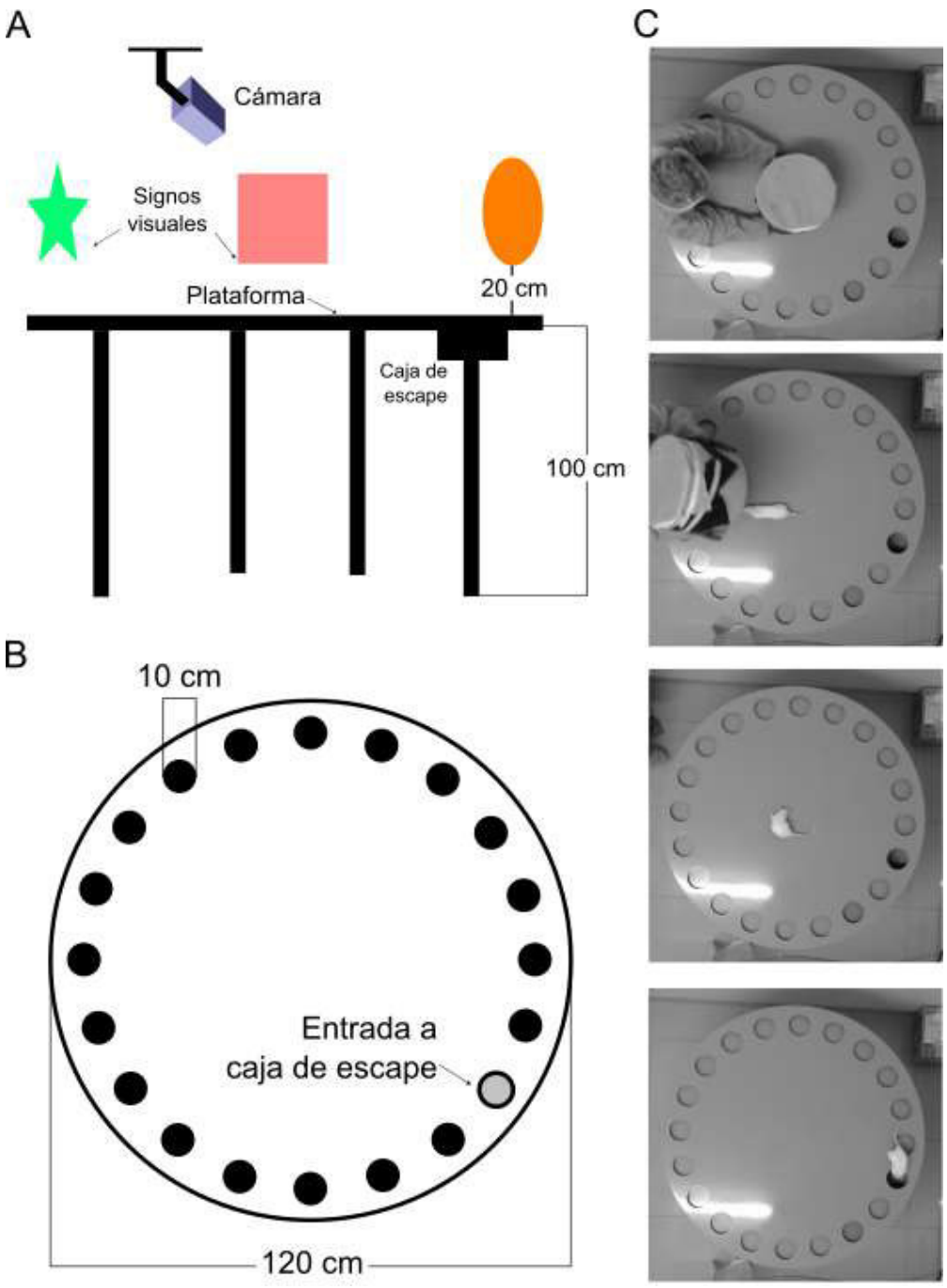
objeto novedoso, y TF el tiempo total de exploración del objeto familiar.

3.4.3 Prueba del laberinto de Barnes

Se llevó a cabo 24 horas después de la última sesión de la prueba de reconocimiento de objetos novedosos. El procedimiento de la prueba está basado en el usado por Dyomina et al. (2023), quienes describieron dos métodos de evaluación de la memoria espacial en un modelo de epilepsia de litio pilocarpina en ratas, y concluyeron que el método más adecuado era el laberinto de Barnes, para evitar el efecto confundidor del estrés y asegurar la seguridad del sujeto. Dicho procedimiento se detalla en el protocolo del laberinto de Barnes, anexo al presente trabajo. Pero se ofrece una descripción de sus aspectos clave en esta sección.

El aparato consiste en una mesa circular de 122 cm de diámetro, con 20 agujeros en su circunferencia interior, una caja de escape que en la fase de entrenamiento esta siempre acoplada en una ubicación fija, y una caja opaca cilíndrica que sirve de punto de inicio. Se colocaron cuatro signos visuales en las paredes que sirven para que los sujetos se orienten alocéntricamente en el espacio. Se acondicionó la habitación a una temperatura de 20 a 23 °C antes de cada sesión, a lo largo de todo el procedimiento.

Figura 18
Esquema del aparato del laberinto de Barnes



Nota. A Esquema del aparato y posición de signos visuales. B Esquema del aparato, vista desde la parte superior C Secuencia (desde la parte superior a inferior) de fotografías que muestra un ensayo típico desde la liberación del animal hasta su entrada a la caja de escape

El procedimiento completo tiene una duración de seis días, en los que se realizaron 11 sesiones por cada sujeto. Consiste en tres fases: habituación, entrenamiento y aprendizaje reverso. Se limpió el aparato entre ensayos de todas las fases y

antes de cambiar a otro sujeto, con alcohol al 96%. La fase de habituación para cada sujeto consistió en lo siguiente: se extrajo el sujeto de su caja, se le posicionó en una caja individual y se le trasladó de la sala de estabulación a la sala de evaluación. A continuación, se colocó al sujeto en la caja de escape y se acopló esta caja con la rata dentro a la mesa durante 5 minutos, luego se le extrajo y se le devolvió a una caja individual mientras se limpiaba la caja y la mesa. Seguidamente, se colocó a la rata en el centro de la mesa con la caja acoplada, permitiéndole encontrar la caja en un máximo de cinco minutos. Si la rata no encontraba la caja en ese periodo, se le guiaba hasta ella. En todo caso, la rata permaneció en la caja durante 5 minutos. Se extrajo la rata de la caja de escape y se le devolvió a su caja individual para limpiar la mesa. El siguiente paso en esta fase fue poner a la rata en la caja opaca, hacer que permaneciera 1 minuto dentro de ella y liberarla para que, de forma similar, encontrara la caja de escape en un período de cinco minutos. Si la rata no encontraba la caja de escape en ese tiempo, se le guiaba hasta ella. En todo caso, la rata permaneció en la caja de escape durante 1 minuto, luego de lo cual se le trasladó a la sala de estabulación, dando por concluida esta fase. El entrenamiento se llevó a cabo 24 horas después. Se fijó la caja de escape en un lugar definitivo y diferente al del día anterior para toda la fase. Luego, se extrajeron a los sujetos de la sala de estabulación y se procedió, en dos ocasiones consecutivas cada día durante los cuatro días de esta fase, a realizar el siguiente procedimiento por cada sujeto: tras llegar a la sala del procedimiento, previamente acondicionada, las ratas fueron colocadas en la plataforma del aparato con la caja opaca por un minuto. Después, se levantó la caja y se esperó 5 minutos a que la rata encontrara la caja de escape. En caso de que la rata no la

haya encontrado, se le guiaba para que entrara por sí misma. En ambos casos, se dejó a la rata en la caja de escape durante 1 minuto. Pasado ese tiempo, se extrajo a la rata y se devolvió a su caja individual. Se realizó un segundo ensayo exactamente 5 minutos después, en el cual también se limpió el aparato como se describió anteriormente. En el aprendizaje reverso, realizado 24 horas después del último día de entrenamiento, el ensayo en la sala del procedimiento consistió en lo siguiente: se desacopló la caja de escape y se dejó que la rata explorara libremente la plataforma durante 90 segundos, concluyendo así la prueba. Todo el procedimiento, desde la segunda parte de la habituación, fue grabado en video. El parámetro principal para esta prueba es la latencia de escape, que se define como el período entre que la rata es liberada de la caja opaca de inicio y encuentra la caja de escape.

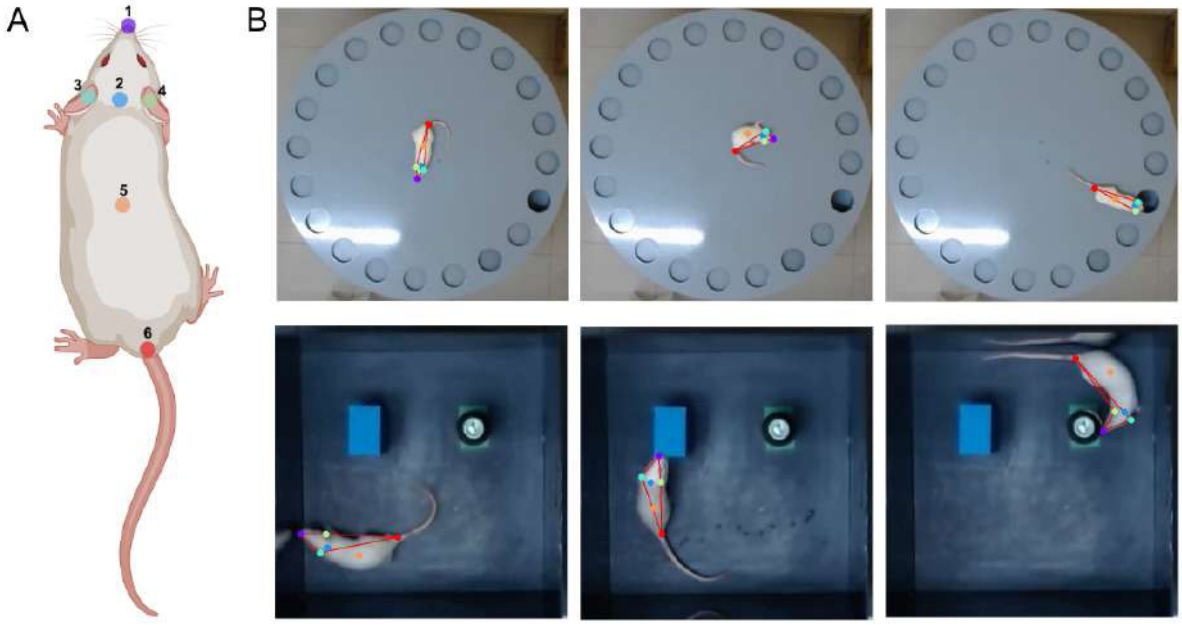
3.5 Análisis comportamental

Todos los ensayos comportamentales fueron grabados mediante una webcam Logitech, la cual fue posicionada en el techo de la habitación sobre los aparatos comportamentales. Los videos fueron grabados a alta resolución (1920x1080px) y a 30 fotogramas por segundo.

Fotogramas de un subconjunto de estos videos fueron usados para el entrenamiento de un modelo en DeepLabCut (DLC, Mathis et al., 2018), el cual se trata de un paquete libre y de código abierto basado en una red neuronal profunda y el principio de aprendizaje de transferencia, para la estimación de poses, que en la actualidad es usado ampliamente en la cuantificación de conductas motoras. Se creó un solo modelo para ambas pruebas comportamentales.

Figura 19

Detalle de la detección de partes corporales mediante DeepLabCut en videos de la prueba



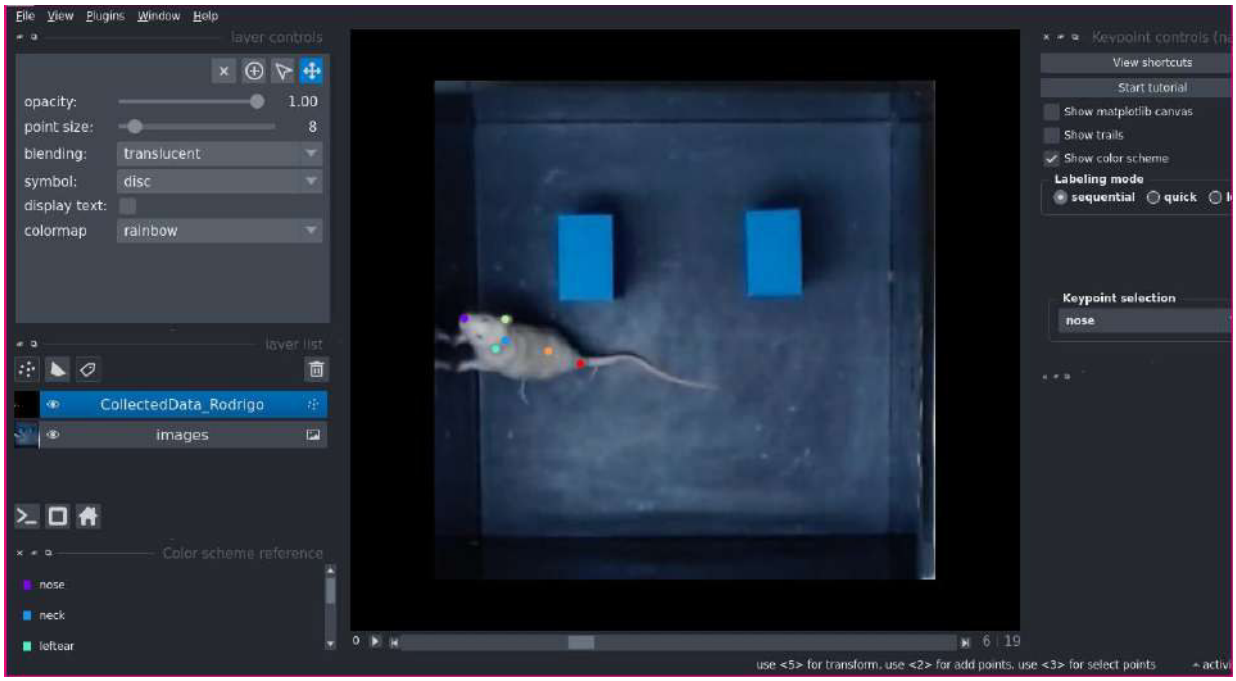
Nota. A. Esquema con las partes corporales incluidas en el modelo de DeepLabCut: 1. Nariz, 2. Cuello, 3. Oreja izquierda, 4. Oreja derecha, 5. Espalda media y 6. Base de la cola

El conjunto de datos de entrenamiento se generó por fotogramas extraídos mediante clusterización a través del algoritmo k-means, de los cuales se etiquetaron 883 fotogramas elegidos de forma aleatoria, pero con un número balanceado de procedencia de cada prueba comportamental. Las partes del cuerpo para las que se estimó trayectorias fueron: nariz, oreja izquierda, oreja derecha, cuello, espalda media y base de la cola.

Este conjunto de datos se dividió en 90% para entrenamiento y 10% para validación del modelo. Se usó la opción ”ResNet_50” (por defecto), con el motor PyTorch.El entrenamiento se realizó durante 150 epochs, pero el mejor modelo se obtuvo en la epoch 60.

Figura 20

Proceso de etiquetado en la interfaz gráfica de DeepLabCut (Prueba NOR)



Este proceso fue realizado mediante un servicio de computación remota. Por razones de reproducibilidad se brinda la información del hardware y el software empleado, a continuación, el cual fue también empleado en la inferencia del resto de videos. SO: Ubuntu 22.04 Docker, CPU: Intel Xeon E5-2680 56x, GPU: NVIDIA GF RTX 4090, RAM: 64GB. python v.3.10, DLC 3.0, CUDA v.12.8. El proceso de training duró aproximadamente una hora y media. El etiquetado se realizó localmente, en una laptop (SO: Gentoo 23.0, CPU: Intel Core i5 7ma gen. RAM: 8GB, sin GPU, python v3.10. DLC 3.0).

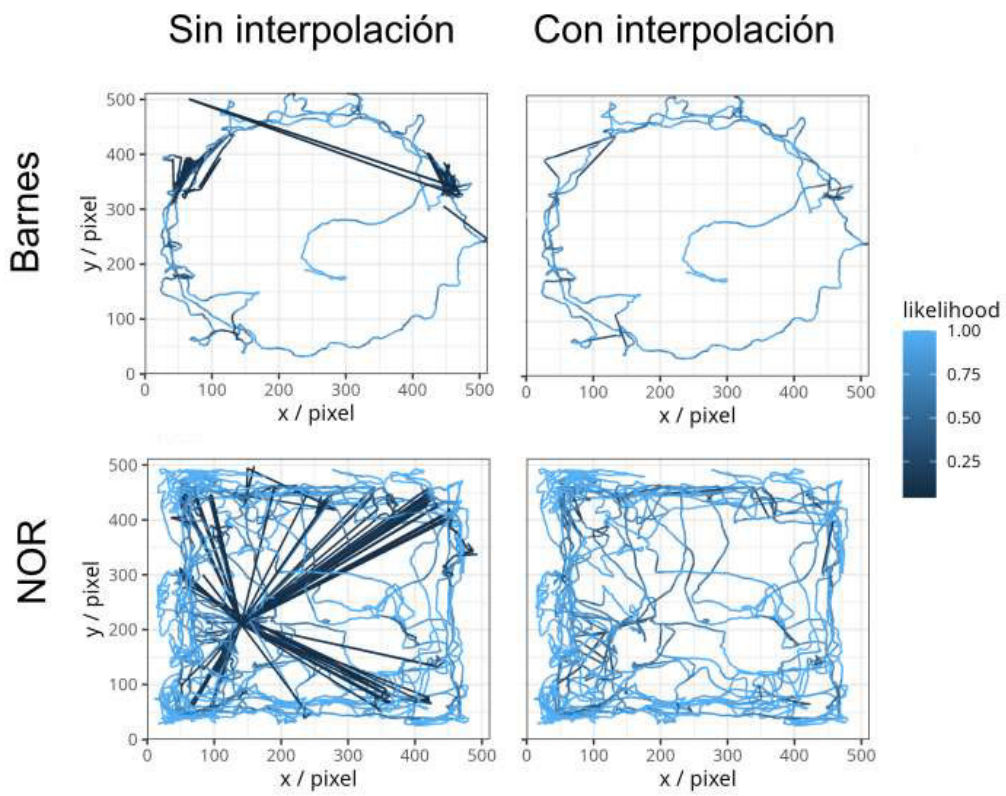
En la evaluación del modelo final se encontró una raíz del error cuadrático medio (RMSE) de 2.37px en el conjunto de entrenamiento y 3.08px en el conjunto de testing, lo cuales se pueden interpretar como valores aceptables teniendo en cuenta que los videos preprocesados tienen una dimensión de 512x512px, esto es, el

RMSE en ambos casos es menor al 1%. La precisión promedio (mAP) fue 97.2% en entrenamiento y 92.6% en prueba, mientras que el recall promedio (mAR) fue 98.2% en entrenamiento y 93.9% en prueba, lo que indica un desempeño robusto en ambos conjuntos.

Los archivos creados por la inferencia de todos los videos del experimento fueron importados al lenguaje R y mediante el script DLCAnalyzer (como es descrito en Sturman et al., 2020) se transformaron los archivos interpolando geométricamente puntos con un bajo nivel de probabilidad (p <0.50). Además mediante este script se generaron gráficos de trayectorias por cada ensayo.

Figura 21

Ejemplo que muestra los resultados de la interpolación de trayectorias con DLCAnalyzer



Dichos archivos procesados fueron importados finalmente en SimBA (Goodwin et al., 2024) donde se capturaron parámetros (latencia de primera entrada, número

de entradas, velocidad y distancia recorrida) mediante la definición y análisis de zonas de interés.

Figura 22

Definición de regiones de interés en SimBA (Laberinto de Barnes).

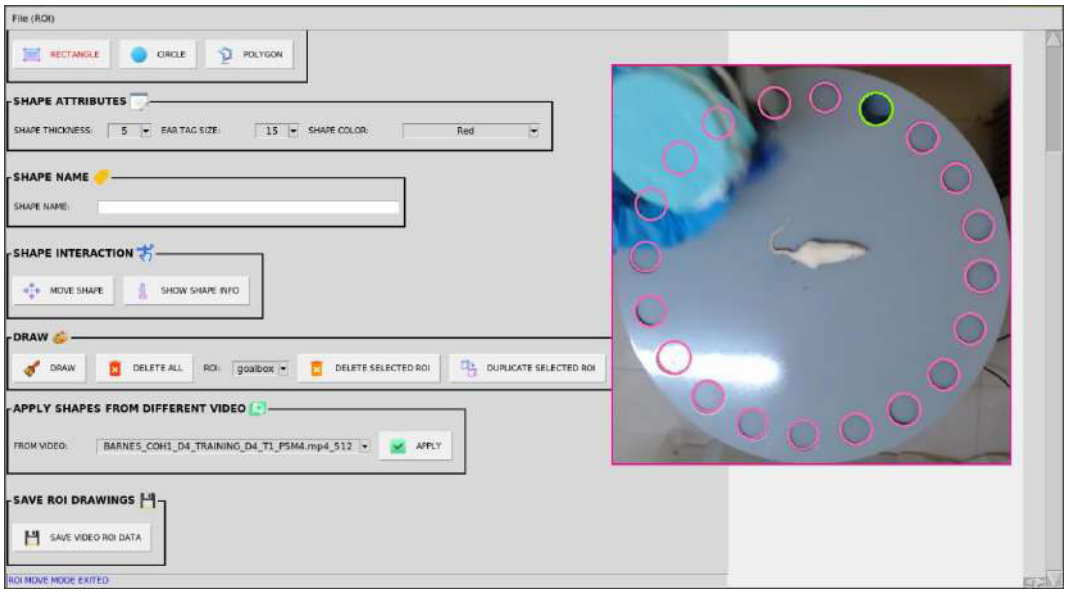


Figura 23

Análisis de regiones de interés en SimBA (Prueba NOR)

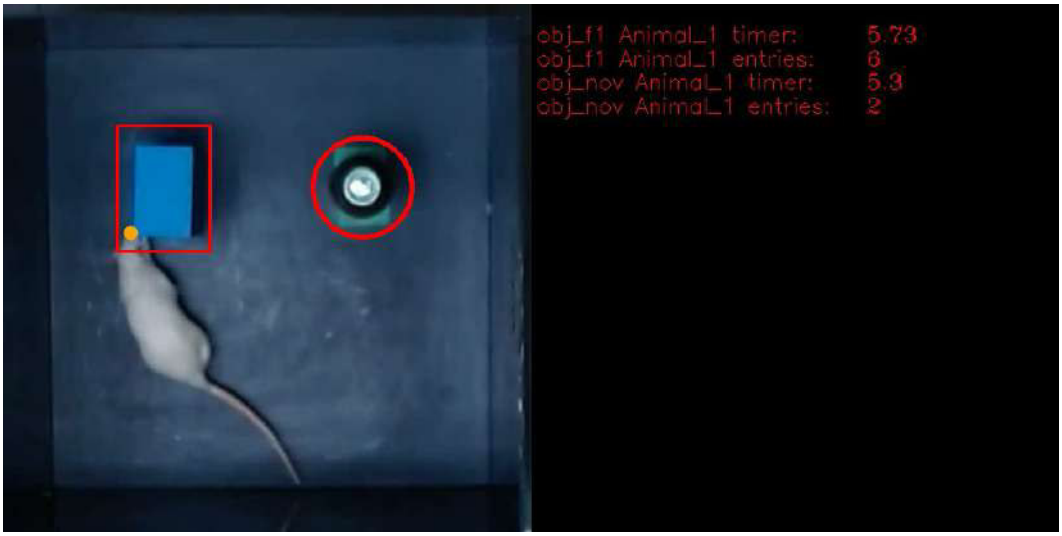
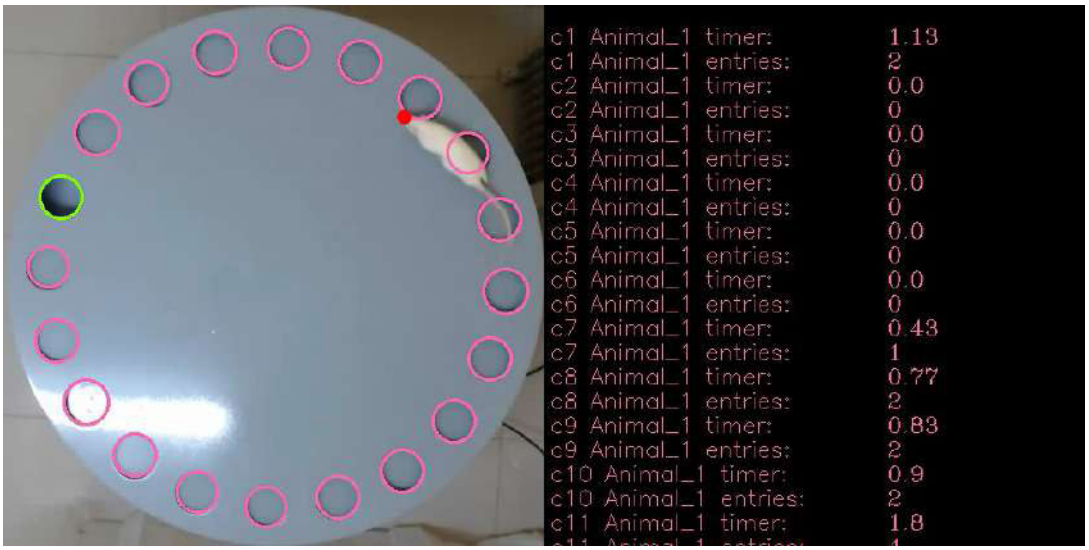


Figura 24

Análisis de regiones de interés en SimBA (Laberinto de Barnes)



3.6 Análisis estadístico

Análisis exploratorios revelaron que muchas variables dependientes no cumplían supuestos de homocedasticidad, por lo cual se consideró inadecuado el uso de pruebas estadísticas comunes (t-Student o ANOVA), puesto que esto corre el riesgo de encontrar errores Tipo I. Más aún, en los últimos tiempos se ha desalentado el uso de las pruebas no paramétricas, las cuales no son convenientes por requerir la transformación drástica de datos a rangos y su tendencia a los falsos negativos (errores Tipo II) (Touchon, 2021; Yu et al., 2022). Aunque los modelos generalizados y mixtos frecuentistas ofrecen una alternativa, su estimación por máxima verosimilitud requiere tamaños de muestra elevados para mitigar errores Tipo II y problemas de convergencia (Saber et al., 2020), lo cual es limitante en estudios experimentales como el presente. Por estas razones se adoptó un marco bayesiano, que ofrece mayor flexibilidad, soporte para muchas distribuciones, el requerimiento de pocos supuestos y (de manera relevante para este estudio) la posibilidad de aportar evidencia *a favor* de la ausencia de un efecto, y no solamente de rechazarla.

Para cada variable dependiente se eligió una verosimilitud acorde a su soporte y se ajustó el modelo correspondiente. El planteamiento se adaptó a la naturaleza de cada una de las tres pruebas conductuales-

El tiempo hasta alcanzar el estado de kindling se analizó como una variable de tiempo al evento, con el sujeto como unidad de análisis, mediante un modelo de fallo acelerado (AFT) con verosimilitud lognormal. Los animales que no alcanzaron el kindling se trataron como observaciones censuradas por la derecha. Este modelo se complementó con una prueba de log-rank por sujeto sobre las curvas de Kaplan-Meier.

En el caso de la prueba NOR, al disponerse de una sola medida por animal, el índice de reconocimiento (proporción en [0,1]) se modeló con una distribución Beta, evaluándose la posición de cada grupo respecto al nivel de azar (0.5). Los parámetros complementarios de locomoción (distancia total recorrida y velocidad media) se modelaron con una distribución Gamma con enlace logarítmico.

Finalmente para la prueba del laberinto de Barnes, por tratarse de un diseño de medidas repetidas, los modelos incorporaron el día de entrenamiento como covariable continua de aprendizaje, el ensayo dentro del día, y efectos aleatorios por sujeto (intercepto y pendiente), permitiendo estimar tanto el nivel como la *tasa* de aprendizaje y su posible interacción con el grupo. La latencia a la caja objetivo se modeló con una Gamma con enlace logarítmico, tratando como censuradas por la derecha las latencias que alcanzaron el techo de la prueba (300 s). Los errores, como conteos, se modelaron con una binomial negativa, y la distancia y la velocidad con sendas Gamma.

Un resumen de la formulación de cada variable dependiente modelada se ofrece

en la siguiente tabla:

Tabla 4
Modelos usados en el análisis (notación de Wilkinson)

Variable dependiente	Tipo de variable	Familia	Modelo nulo (M0)	Modelo alternativo (M1)
Prueba de kindling (PTZ)				
Latencia al kindling (sesiones)	Tiempo al evento (censurable)	Lognormal (AFT)	tiempo | cens ~ 1	tiempo | cens ~ grupo
Prueba NOR				
Índice de reconocimiento	Proporción [0,1]	Beta	indice_recog ~ 1	indice_recog ~ grupo
Distancia total recorrida	Continua positiva	Gamma	dist ~ 1	dist ~ grupo
Velocidad media	Continua positiva	Gamma	vel ~ 1	vel ~ grupo
Prueba del laberinto de Barnes				
Latencia a primera visita del objetivo	Continua positiva (censurada)	Gamma	lat | cens ~ dia + intento + (1 + dia | id)	lat | cens ~ grupo * dia + intento + (1 + dia | id)
Errores hasta la visita del objetivo	Conteo	Binomial negativa	err ~ dia + intento + (1 + dia | id)	err ~ grupo * dia + intento + (1 + dia | id)

Distancia total recorrida	Continua positiva	Gamma	dist ~ dia + intento + (1 + dia | id)	dist ~ grupo * dia + intento + (1 + dia | id)
Velocidad media	Continua positiva	Gamma	vel ~ dia + intento + (1 + dia | id)	vel ~ grupo * dia + intento + (1 + dia | id)

Nota. “dia” se modela como covariable continua centrada (curva de aprendizaje) e “intento” como el ensayo (1/2) dentro de cada día; “id” denota al sujeto.

En todos los casos se usaron *priors* débilmente informativos, justificados sobre la escala natural de cada modelo, cuya influencia se verificó mediante evaluaciones predictivas a priori. Los modelos se ajustaron por MCMC (4 cadenas; 8000 iteraciones, 2000 de calentamiento; 14000 para los modelos jerárquicos del laberinto de Barnes), y la convergencia y resolución de las cadenas se evaluaron con el estadístico R (≤ 1.01) y el tamaño de muestra efectivo (ESS ≥ 10000), además de la inspección visual. El ajuste se comprobó con evaluaciones predictivas posteriores. La inferencia se basó principalmente en la estimación: para cada grupo y para los contrastes de interés se reportan la mediana posterior y el intervalo de máxima densidad posterior (HPD 95%), y las decisiones (efecto presente, prácticamente nulo, o indeciso) se tomaron comparando el HPD con una región de equivalencia práctica (ROPE) definida de antemano. De manera complementaria se calcularon factores de Bayes, acompañados de un análisis de sensibilidad a los *priors*. Los modelos se ajustaron mediante la interfaz del lenguaje Stan para modelos mixtos

en R, *brms* (Gelman et al., 2015; Bürkner, 2017).

3.7 Control de variables de confusión

Exceptuando las intervenciones experimentales de cada grupo, las ratas se mantuvieron en condiciones similares. Tuvieron acceso a comida y bebida ad libitum. Se las pesó antes de cada sesión para calcular dosis de fármacos y al mismo tiempo notar alguna fluctuación anómala en los pesos. Las ratas se alojaron en grupos de máximo cinco ratas por caja.

Entre las posibles variables de confusión, se controló el efecto estresante de las inyecciones. Por tal motivo, todas las ratas de todos los grupos fueron sometidas exactamente al mismo número de inyecciones, exceptuando las de la sesión de PTZ challenge, que solo fueron administradas a los grupos del modelo de pentilenotetrazol. También se controlaron los efectos del vehículo en el diseño experimental.

Figura 25
Control de variables de confusión

A



B



C



Nota. A Tres ratas en alojamiento por caja antes de ser pesadas para determinar la cantidad exacta de dosis. B Preparación de PTZ en condiciones estériles C Control de temperatura y humedad.

Las pruebas comportamentales para las cuales se extrajo de manera individual sujetos de sus cajas fueron realizadas alternando cajas para controlar, a nivel de grupos, los efectos de la hora del día en que fue llevada a cabo la evaluación, y para no estresar a los miembros de una caja por la repetida extracción y devolución de sujetos. Y en los días de evaluación se evitaron procedimientos potencialmente es-

tresantes como cambios de cajas, para evitar efectos de estresores agudos en la adquisición y consolidación de memorias.

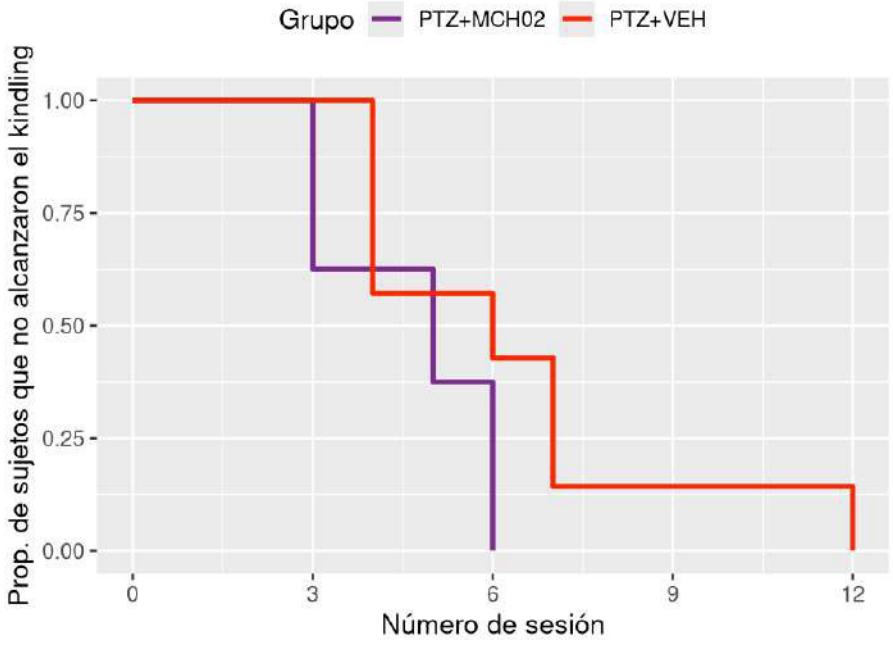
4 RESULTADOS

4.1 La administración de macamida no modifica de forma concluyente la velocidad de adquisición del kindling

En la siguiente figura se presentan curvas de supervivencia (Kaplan-Meier) que ilustran el tiempo hasta alcanzar el estado de kindling en los dos grupos experimentales sometidos al protocolo con PTZ durante 35 días (17 sesiones interdiarias). El grupo tratado con MCH02+PTZ (línea púrpura) tendió a alcanzar el kindling en un menor número de sesiones que el grupo control (VEH+PTZ, línea roja), pero las curvas se solapan ampliamente. La prueba de log-rank, calculada con el sujeto como unidad de análisis, no indicó una diferencia estadísticamente significativa entre las curvas (χ^2 = 2.50, gl = 1, p = 0.11).

Figura 26

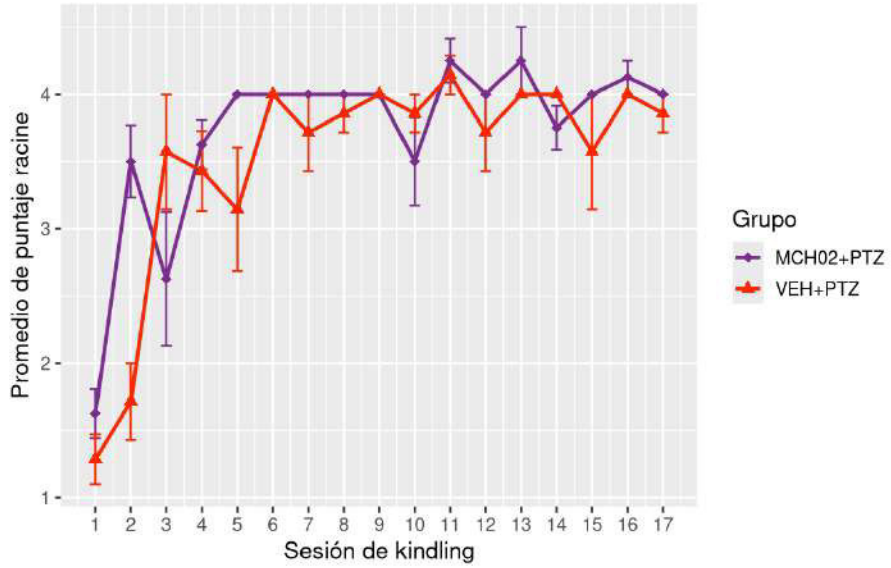
Curvas de Kaplan-Meier para los grupos experimentales sometidos a kindling



El modelo bayesiano de tiempo al evento (AFT lognormal) estimó un número esperado de sesiones hasta el kindling de 6.2 (HPD [4.6, 8.3]) para VEH+PTZ y de 4.9 (HPD [3.7, 6.5]) para MCH02+PTZ, con un factor de aceleración asociado al tratamiento de 0.79 (HPD del log-factor [−0.61, 0.15]) y una diferencia de 1.3 sesiones (HPD [−0.9, 3.6]). Los puntajes promedio de Racine por sesión (Figura 27) muestran una progresión similar en ambos grupos.

Figura 27

Puntajes promedio de Racine para los grupos experimentales sometidos a kindling



En conjunto, no se halló evidencia concluyente de que la macamida modifique la velocidad de adquisición del kindling: aunque la probabilidad posterior de que el grupo tratado kindlee antes que el control es apreciable (P = 0.89) y la tendencia apunta a una aceleración de aproximadamente 21%, el intervalo de densidad posterior incluye con holgura la ausencia de efecto y se solapa con la ROPE, por lo que la magnitud y la dirección del efecto no pueden afirmarse con certeza.

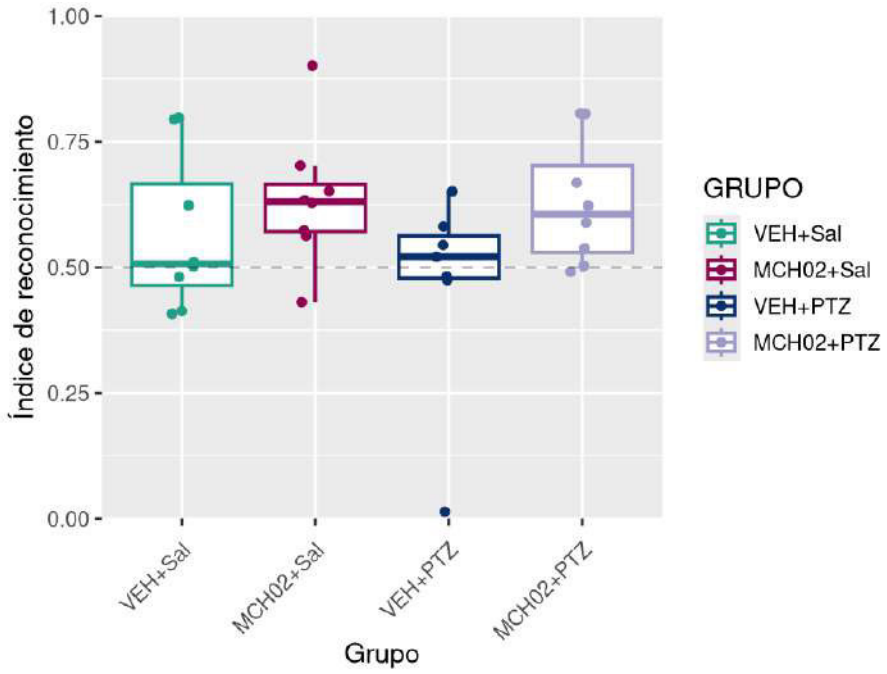
4.2 El índice de reconocimiento es menor en el grupo VEH+PTZ y se conserva en los grupos tratados con macamida

Para la prueba NOR se calculó el índice de reconocimiento según la fórmula antes descrita. Se presenta un resumen de los estadísticos descriptivos de esta variable en la siguiente tabla y figura, por grupo.

Tabla 5
Resumen de estadísticos descriptivos del índice de reconocimiento, por grupo

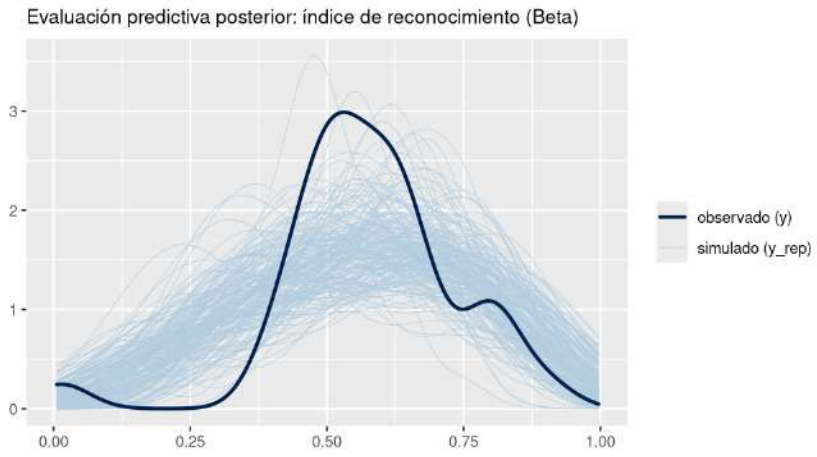
GRUPO	n	Media	SD	SEM
VEH+Sal	8	0.57	0.16	0.055
MCH02+Sal	8	0.64	0.13	0.048
VEH+PTZ	7	0.47	0.21	0.079
MCH02+PTZ	8	0.63	0.12	0.044

Figura 28
Índice de reconocimiento de la prueba NOR por grupo



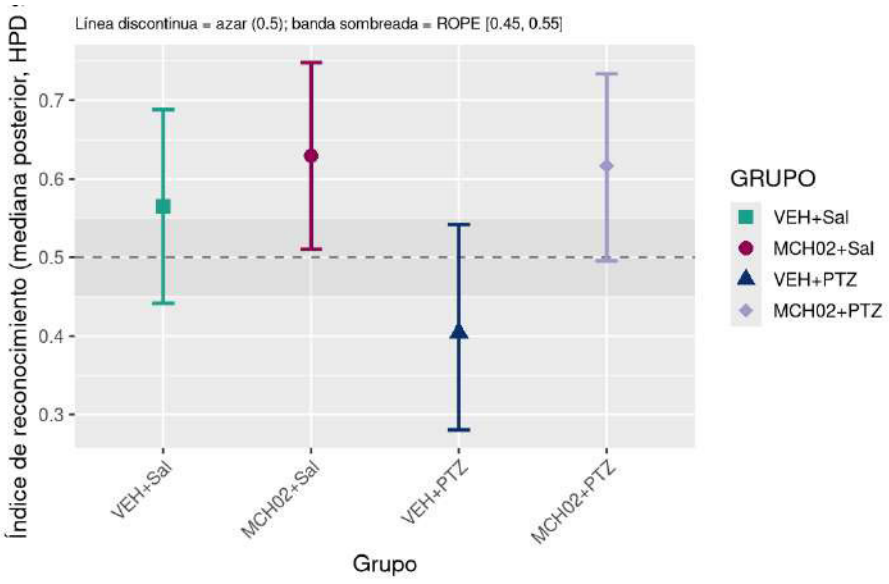
Se ajustó el modelo Beta para el índice de reconocimiento, que mostró un ajuste adecuado según la inspección visual de la evaluación predictiva del posterior.

Figura 29
Evaluación posterior predictiva del índice de reconocimiento



Se estimó, para cada grupo, la posición del índice de reconocimiento respecto al nivel de azar (0.5). Los grupos tratados con macamida se ubican de manera creíble por encima del azar (probabilidad posterior de que el índice supere 0.5: 0.98 para MCH02+Sal y 0.97 para MCH02+PTZ), mientras que el grupo VEH+PTZ se ubica probablemente por debajo del azar (P(índice > 0.5) = 0.08), y el grupo VEH+Sal queda en una posición intermedia (P = 0.84). Las medianas posteriores e intervalos HPD (95%) por grupo se presentan en la Figura 30.

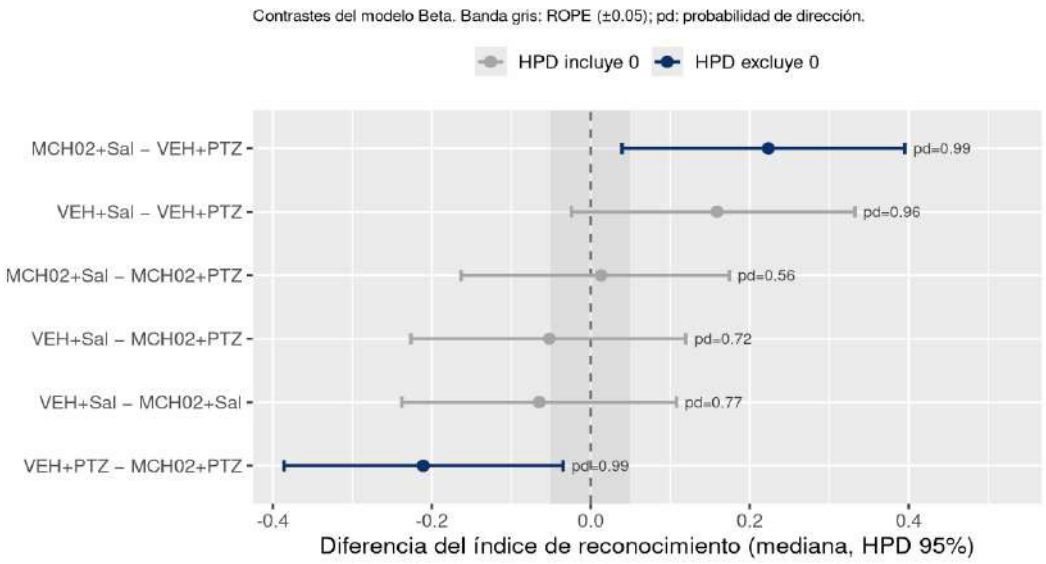
Figura 30
Medianas posteriores e intervalos HPD (95%) del índice de reconocimiento por grupo



El contraste entre grupos indica que el grupo VEH+PTZ presenta un índice de reconocimiento creíblemente menor que el del grupo MCH02+PTZ (diferencia mediana = −0.21, HPD [−0.39, −0.03], que excluye el cero; probabilidad de la dirección = 0.99), y de manera análoga respecto a MCH02+Sal (diferencia mediana = −0.22, HPD [−0.40, −0.04]). El intervalo de estas diferencias se solapa con la ROPE de ±0.05, por lo que se trata de un efecto direccional creíble cuya magnitud no puede afirmarse con certeza. De manera complementaria, el factor de Bayes para el efecto de grupo resultó muy sensible a la amplitud del prior (BF_{10} entre ≈ 1.0 y ≈ 0.06), motivo por el cual la inferencia se basa principalmente en la estimación. Estos contrastes se derivan de la distribución posterior del mismo modelo Beta (son cantidades derivadas de un único ajuste, no pruebas a posteriori independientes), por lo que, bajo el marco de estimación bayesiana, no requieren las correcciones por comparaciones múltiples propias del enfoque frecuentista (Kruschke, 2015). En consecuencia, se reportan todos los contrastes. La diferencia entre el grupo VEH+PTZ y los grupos tratados con macamida se ilustra en las Figuras 31 y 32.

Figura 31

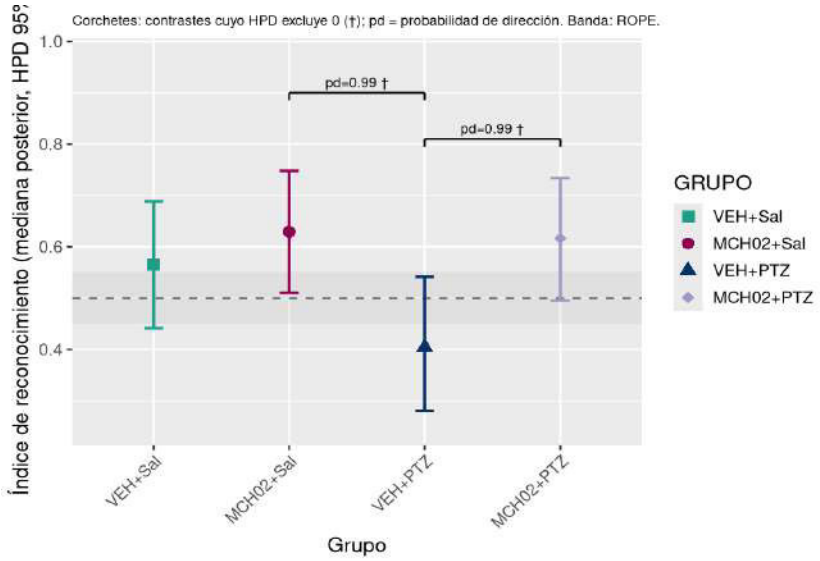
Contrastes pareados del índice de reconocimiento (modelo Beta)



Nota. Diferencias del índice entre cada par de grupos (mediana y HPD 95%). Los contrastes cuyo HPD excluye el cero (en azul) corresponden a diferencias direccionalmente creíbles; pd es la probabilidad de dirección. La banda gris es la ROPE (±0.05).

Figura 32

Índice de reconocimiento por grupo con los contrastes creíbles señalados



Nota. El símbolo † indica que el intervalo HPD del 95% de la diferencia entre los grupos señalados excluye el cero (efecto direccional creíble); pd es la probabilidad de dirección. No se emplean asteriscos de significación, ajenos al marco de estimación bayesiana.

En conjunto, el reconocimiento se ubicó por debajo del azar únicamente en el grupo VEH+PTZ y se conservó (creíblemente por encima del azar) en los dos grupos

tratados con macamida. La diferencia entre VEH+PTZ y los grupos con macamida es creíble en su dirección, aunque no decisiva en su magnitud.

En cuanto a los parámetros complementarios de la prueba (velocidad media y distancia total recorrida), se resumen los estadísticos descriptivos por grupo en la siguiente tabla y figuras:

Tabla 6

Resumen de estadísticos descriptivos de los parámetros complementarios de la prueba NOR, por grupo

		Distancia:			Velocidad:		
GRUPO	n	Media	SD	SEM	Media	SD	SEM
VEH+Sal	8	2620.36	373.08	131.90	8.74	1.24	0.44
MCH02+Sal	8	2336.62	357.04	126.23	7.79	1.19	0.42
VEH+PTZ	7	2150.47	730.03	275.93	7.17	2.43	0.92
MCH02+PTZ	8	2432.92	172.34	60.93	8.11	0.57	0.20

Figura 33

Velocidad media por grupo en el día de la prueba NOR

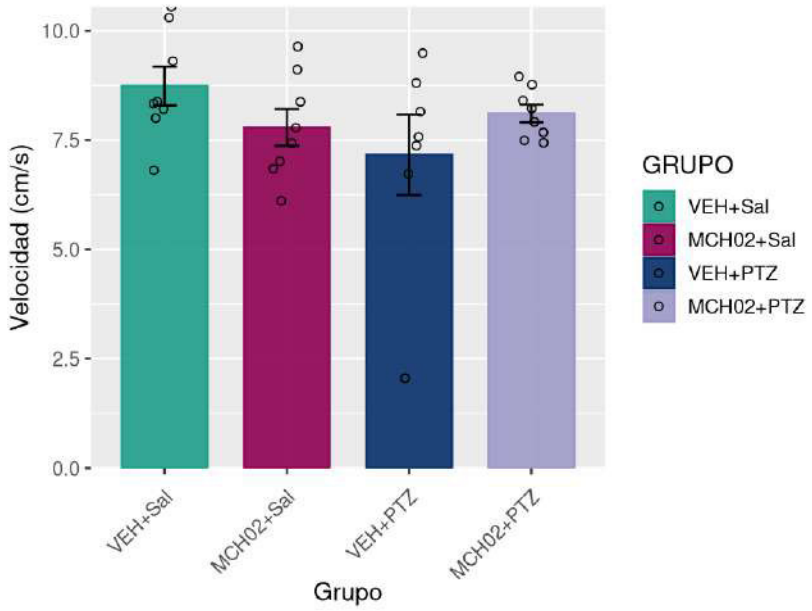
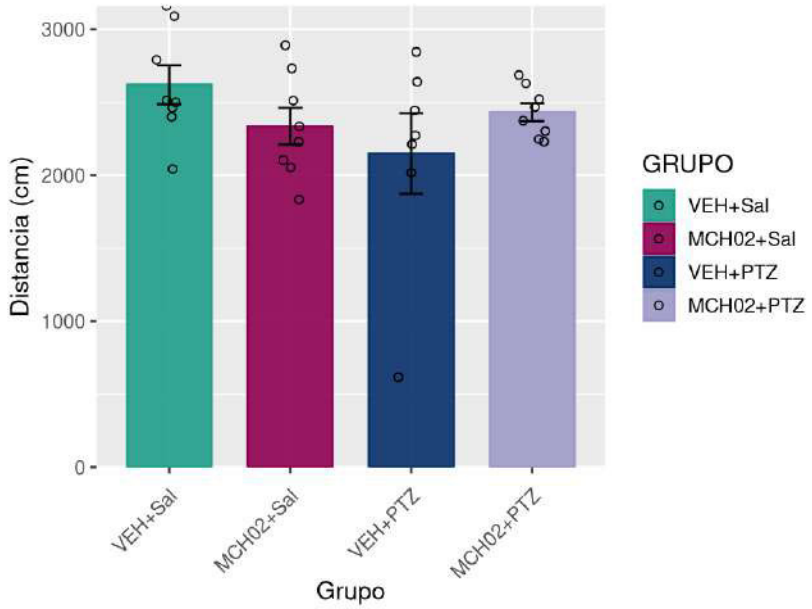
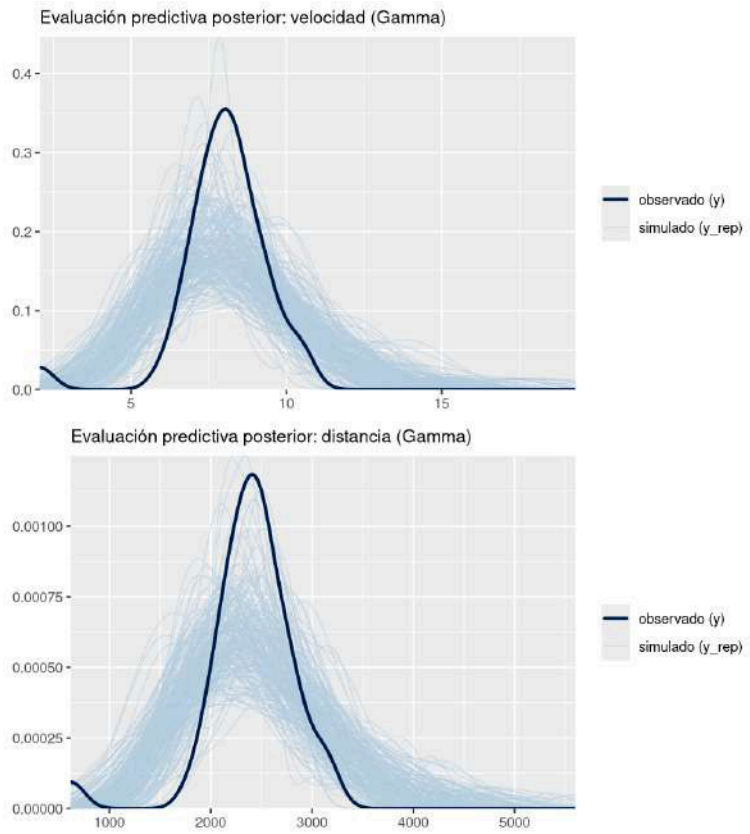


Figura 34
Distancia total recorrida por grupo en el día de la prueba NOR



En la velocidad media y en la distancia total recorrida, ningún contraste entre grupos resultó creíblemente distinto de cero: todos los intervalos HPD cruzan la ROPE. No se observan, por tanto, diferencias creíbles de locomoción entre los grupos, de modo que las diferencias en el índice de reconocimiento no son atribuibles a la actividad motora. El ajuste de ambos modelos se comprobó con la inspección de las evaluaciones predictivas posteriores (Figura 35).

Figura 35
Evaluación posterior predictiva de los parámetros complementarios de la prueba NOR



Nota. Fila superior: velocidad media. Fila inferior: distancia total recorrida.

4.3 No se observan diferencias concluyentes entre los grupos en el aprendizaje espacial

La latencia se calculó como el tiempo hasta la primera visita a la caja objetivo en cada sesión. Se provee un resumen de los estadísticos descriptivos por grupo, por día y por ensayo, en la siguiente tabla y figura.

Tabla 7
Resumen de estadísticos descriptivos de latencias de la prueba del laberinto de Barnes

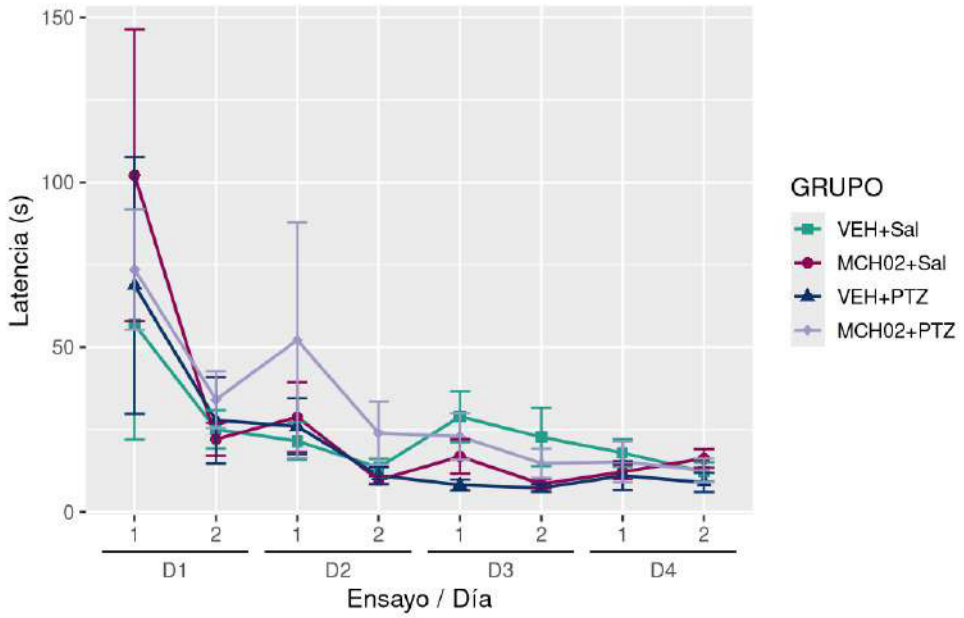
ENSAYO	n	Media	SD	SEM
DÍA 1 – VEH+Sal				
1	8	56.88	98.78	34.92

ENSAYO	n	Media	SD	SEM
2	8	25.07	16.45	5.82
DÍA 1 – MCH02+Sal				
1	8	102.14	125.26	44.28
2	8	22.04	13.99	4.95
DÍA 1 – VEH+PTZ				
1	7	68.71	102.99	38.93
2	7	27.77	34.70	13.12
DÍA 1 – MCH02+PTZ				
1	8	73.55	51.42	18.18
2	8	34.07	24.34	8.61
DÍA 2 – VEH+Sal				
1	8	21.48	16.05	5.67
2	8	13.44	7.54	2.67
DÍA 2 – MCH02+Sal				
1	8	28.74	30.02	10.61
2	8	9.66	3.40	1.20
DÍA 2 – VEH+PTZ				
1	7	25.94	22.51	8.51
2	7	11.06	6.79	2.57
DÍA 2 – MCH02+PTZ				
1	8	52.12	101.04	35.72
2	8	23.88	27.11	9.59
DÍA 3 – VEH+Sal				

ENSAYO	n	Media	SD	SEM
1	8	28.90	21.77	7.70
2	8	22.70	24.95	8.82
DÍA 3 – MCH02+Sal				
1	8	16.80	14.74	5.21
2	8	8.48	3.99	1.41
DÍA 3 – VEH+PTZ				
1	7	8.20	4.39	1.66
2	7	7.25	3.13	1.18
DÍA 3 – MCH02+PTZ				
1	8	22.89	20.08	7.10
2	8	14.74	12.59	4.45
DÍA 4 – VEH+Sal				
1	8	17.90	11.63	4.11
2	8	12.12	8.20	2.90
DÍA 4 – MCH02+Sal				
1	8	12.14	6.20	2.19
2	8	16.21	7.94	2.81
DÍA 4 – VEH+PTZ				
1	7	11.02	11.53	4.36
2	7	8.94	7.74	2.93
DÍA 4 – MCH02+PTZ				
1	8	15.18	17.57	6.21
2	8	12.60	10.20	3.61

ENSAYO	n	Media	SD	SEM

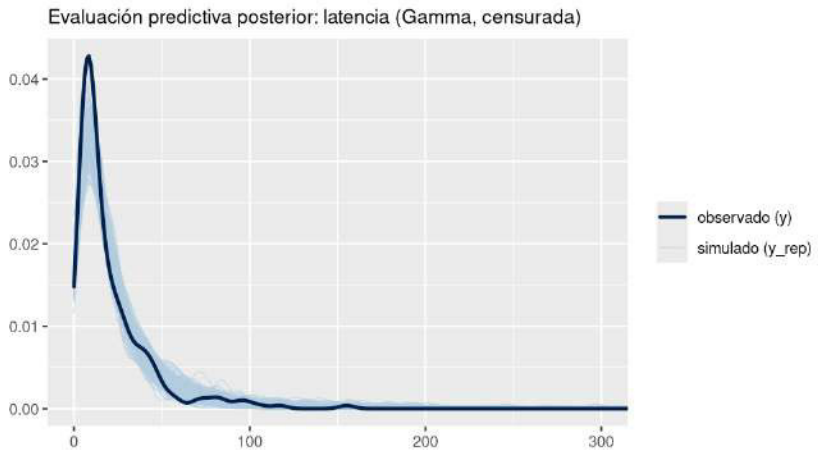
Figura 36
Latencias en la prueba del laberinto de Barnes



Nota. El eje inferior representa los días del entrenamiento, donde están anidados los ensayos.

El modelo de latencia mostró una pendiente de aprendizaje negativa en el grupo de referencia (VEH+Sal: −0.21 log/día, HPD [−0.48, 0.07]; P(pendiente < 0) = 0.93), indicando que los animales encontraron la caja objetivo más rápido a lo largo del entrenamiento. Ninguna de las interacciones grupo × día resultó creíblemente distinta de cero (todos los HPD cruzan la ROPE), de modo que no hay evidencia de que el grupo modifique la tasa de aprendizaje. El ajuste se comprobó con la evaluación predictiva posterior (Figura 37).

Figura 37
Evaluación posterior predictiva de la latencia en la prueba del laberinto de Barnes



Los errores se cuantificaron como las visitas a agujeros distintos de la caja objetivo durante los días de entrenamiento. Se presentan a continuación los estadísticos descriptivos por grupo, por día y por ensayo.

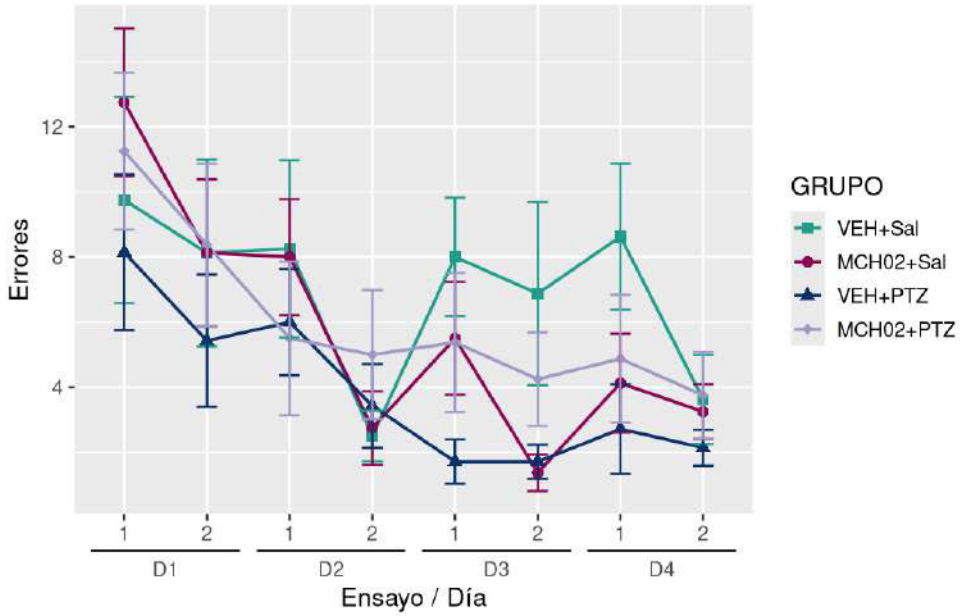
Tabla 8
Resumen de estadísticos descriptivos de errores de la prueba del laberinto de Barnes

ENSAYO	n	Media	SD	SEM
DÍA 1 – VEH+Sal				
1	8	9.75	8.96	3.17
2	8	8.12	8.11	2.87
DÍA 1 – MCH02+Sal				
1	8	12.75	6.43	2.27
2	8	8.12	6.38	2.26
DÍA 1 – VEH+PTZ				
1	7	8.14	6.34	2.39
2	7	5.43	5.38	2.03
DÍA 1 – MCH02+PTZ				
1	8	11.25	6.82	2.41

ENSAYO	n	Media	SD	SEM
2	8	8.38	7.05	2.49
DÍA 2 – VEH+Sal				
1	8	8.25	7.70	2.72
2	8	2.50	2.20	0.78
DÍA 2 – MCH02+Sal				
1	8	8.00	5.04	1.78
2	8	2.75	3.20	1.13
DÍA 2 – VEH+PTZ				
1	7	6.00	4.32	1.63
2	7	3.43	3.41	1.29
DÍA 2 – MCH02+PTZ				
1	8	5.50	6.68	2.36
2	8	5.00	5.61	1.98
DÍA 3 – VEH+Sal				
1	8	8.00	5.15	1.82
2	8	6.88	7.95	2.81
DÍA 3 – MCH02+Sal				
1	8	5.50	4.90	1.73
2	8	1.38	1.60	0.56
DÍA 3 – VEH+PTZ				
1	7	1.71	1.80	0.68
2	7	1.71	1.38	0.52
DÍA 3 – MCH02+PTZ				

ENSAYO	n	Media	SD	SEM
1	8	5.38	6.05	2.14
2	8	4.25	4.06	1.44
DÍA 4 – VEH+Sal				
1	8	8.62	6.35	2.24
2	8	3.62	3.85	1.36
DÍA 4 – MCH02+Sal				
1	8	4.12	4.29	1.52
2	8	3.25	2.38	0.84
DÍA 4 – VEH+PTZ				
1	7	2.71	3.64	1.38
2	7	2.14	1.46	0.55
DÍA 4 – MCH02+PTZ				
1	8	4.88	5.54	1.96
2	8	3.75	3.77	1.33

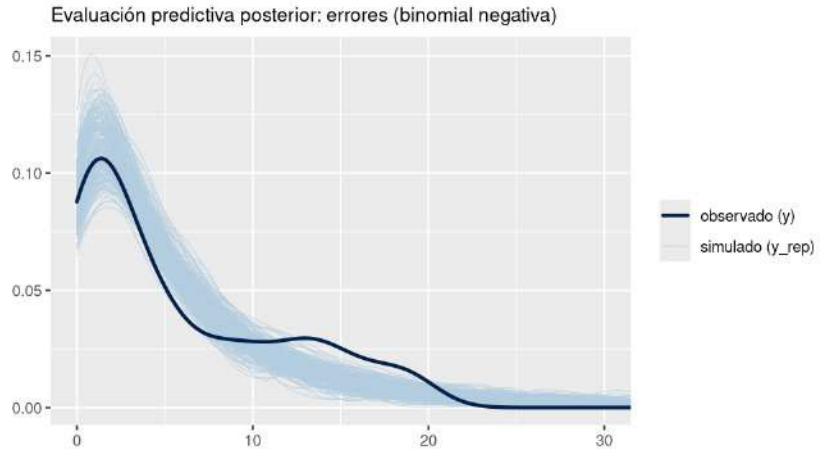
Figura 38
Errores en la prueba del laberinto de Barnes



Los errores se modelaron directamente con una distribución binomial negativa. La evaluación predictiva posterior (Figura 39) mostró un ajuste adecuado, incluyendo la proporción de ensayos sin errores. Ninguna interacción grupo × día resultó creíble. En el nivel promedio, el grupo VEH+Sal cometió creíblemente más errores que el grupo VEH+PTZ (diferencia en log = 0.61, HPD [0.11, 1.10], que excluye la ROPE).

Figura 39

Evaluación posterior predictiva de la variable errores

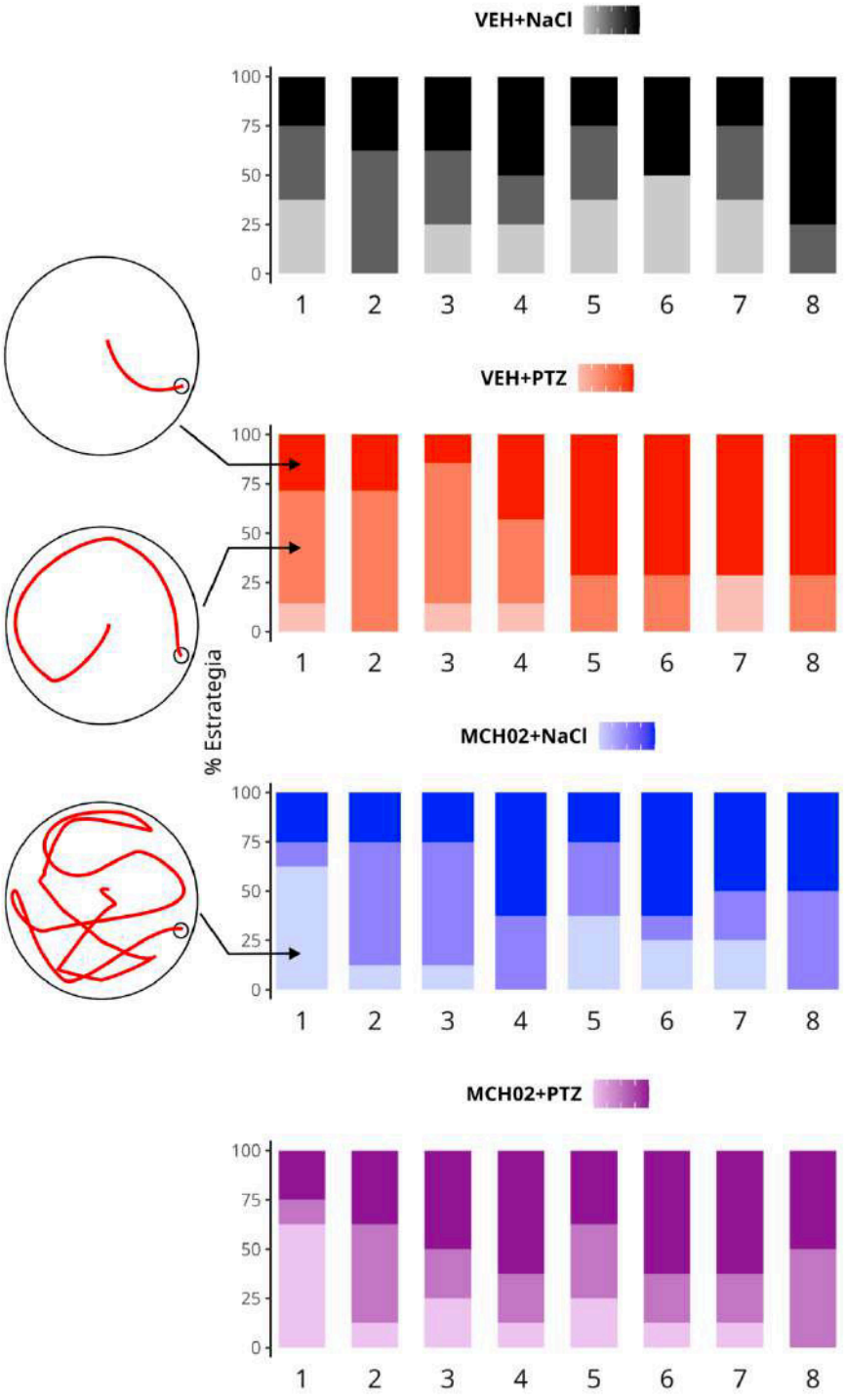


Adicionalmente se caracterizaron las estrategias de búsqueda revisando los gráficos de trayectorias de la nariz y codificándolos por los trazos que describen. Un

resumen se muestra en la siguiente figura.

Figura 40

Estrategias empleadas en el laberinto de Barnes



Nota. Porcentaje de estrategias de entrada a la caja objetivo, separadas por cada grupo, por ensayo. La estrategia espacial (fondo más oscuro) es la más directa, la estrategia secuencial (fondo intermedio) se refiere a una búsqueda ordenada, agujero por agujero. La estrategia aleatoria refleja una deambulación sin objetivo por el laberinto

4.3.1 Parámetros complementarios del laberinto de Barnes

En cuanto a los parámetros complementarios de la prueba (velocidad media y distancia total recorrida), se resumen los estadísticos descriptivos por grupo, por día y por ensayo, en la siguiente tabla:

Tabla 9
Resumen de estadísticos descriptivos de parámetros complementarios de la prueba del laberinto de Barnes

		Distancia:			Velocidad:		
ENSAYO	n	Media	SD	SEM	Media	SD	SEM
DÍA 1 – VEH+Sal							
1	8	922.34	895.06	316.45	9.17	1.98	0.70
2	8	306.88	210.41	74.39	9.28	2.30	0.81
DÍA 1 – MCH02+Sal							
1	8	1033.11	698.31	246.89	10.05	4.03	1.43
2	8	449.09	470.39	166.31	9.60	1.87	0.66
DÍA 1 – VEH+PTZ							
1	7	551.70	574.44	217.12	8.71	1.91	0.72
2	7	254.48	200.22	75.67	8.70	1.86	0.70
DÍA 1 – MCH02+PTZ							
1	8	806.89	516.40	182.57	9.81	1.94	0.68
2	8	370.84	223.32	78.96	8.82	2.29	0.81
DÍA 2 – VEH+Sal							
1	8	562.04	660.04	233.36	10.46	2.15	0.76
2	8	192.15	92.65	32.76	9.54	2.00	0.71
DÍA 2 – MCH02+Sal							

		Distancia:			Velocidad:		
ENSAYO	n	Media	SD	SEM	Media	SD	SEM
1	8	431.35	513.24	181.46	10.98	3.18	1.13
2	8	154.01	79.38	28.06	9.60	1.98	0.70
DÍA 2 – VEH+PTZ							
1	7	284.76	183.40	69.32	9.47	2.06	0.78
2	7	161.72	69.78	26.37	8.88	2.05	0.77
DÍA 2 – MCH02+PTZ							
1	8	546.23	967.04	341.90	8.29	2.19	0.77
2	8	252.67	224.68	79.44	8.75	1.14	0.40
DÍA 3 – VEH+Sal							
1	8	363.15	240.77	85.13	10.46	1.76	0.62
2	8	387.45	372.27	131.62	9.86	2.03	0.72
DÍA 3 – MCH02+Sal							
1	8	284.61	166.78	58.96	11.36	3.00	1.06
2	8	142.13	65.57	23.18	9.30	2.70	0.96
DÍA 3 – VEH+PTZ							
1	7	122.35	36.05	13.63	8.41	1.06	0.40
2	7	136.18	39.07	14.77	8.91	2.63	0.99
DÍA 3 – MCH02+PTZ							
1	8	316.83	293.88	103.90	10.41	3.64	1.29
2	8	199.72	152.51	53.92	9.28	1.44	0.51
DÍA 4 – VEH+Sal							
1	8	355.69	214.04	75.67	11.78	2.37	0.84

		Distancia:			Velocidad:		
ENSAYO	n	Media	SD	SEM	Media	SD	SEM
2	8	194.43	98.68	34.89	10.89	3.66	1.29
DÍA 4 – MCH02+Sal							
1	8	215.41	155.67	55.04	10.78	1.85	0.65
2	8	201.97	95.96	33.93	9.61	1.76	0.62
DÍA 4 – VEH+PTZ							
1	7	179.64	133.77	50.56	9.77	2.67	1.01
2	7	138.61	61.09	23.09	9.26	1.95	0.74
DÍA 4 – MCH02+PTZ							
1	8	210.05	197.70	69.90	9.02	2.22	0.78
2	8	177.95	109.66	38.77	9.18	1.31	0.46

Figura 41
Distancia total recorrida en la prueba del laberinto de Barnes

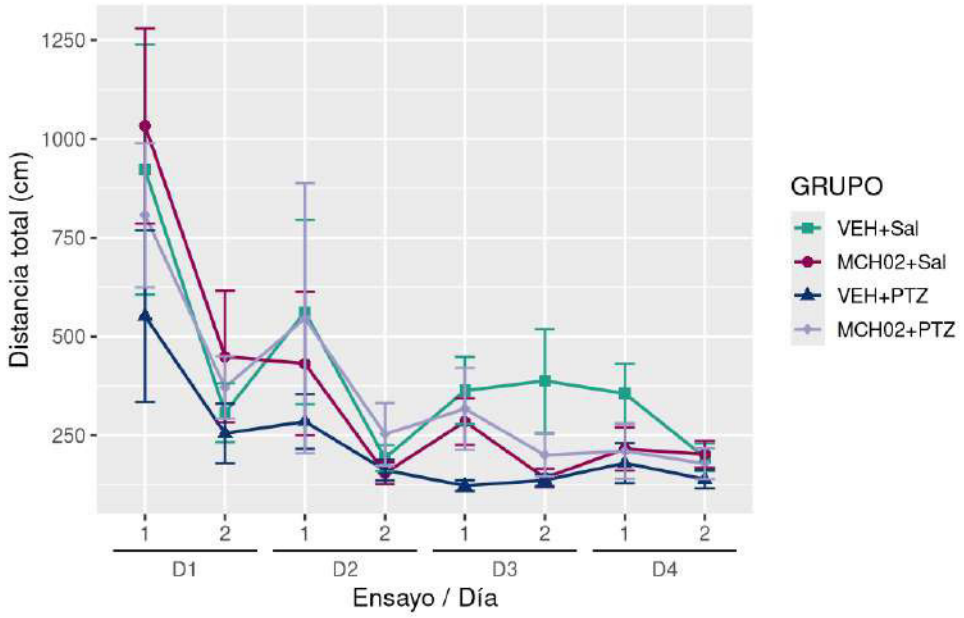
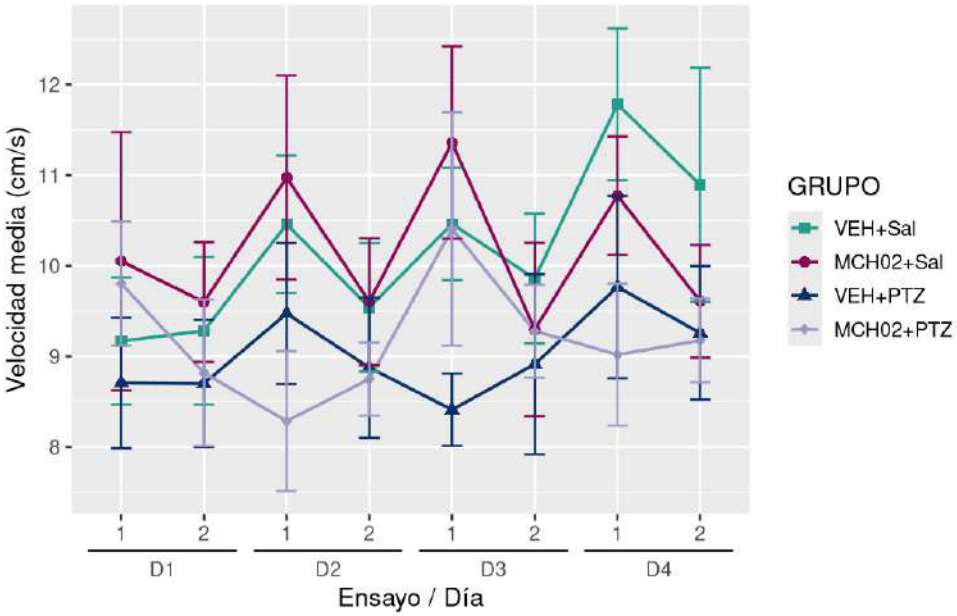
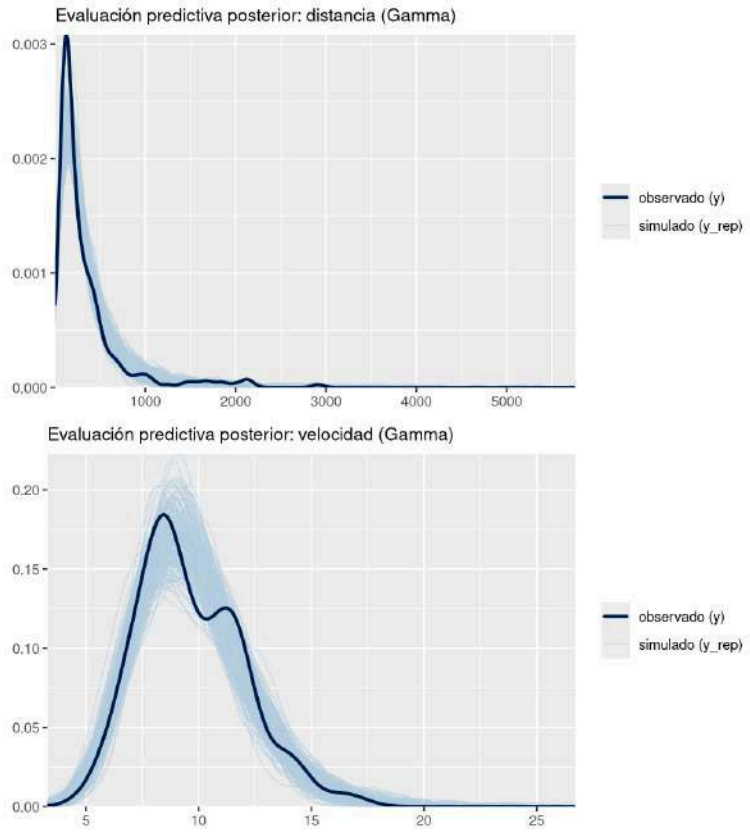


Figura 42
Velocidad media en la prueba del laberinto de Barnes



En la distancia total recorrida, el grupo VEH+Sal recorrió creíblemente más distancia que el grupo VEH+PTZ en el nivel promedio (diferencia en log = 0.57, HPD [0.15, 0.97]), de manera consistente con el mayor número de errores. Ambos parámetros sugieren un patrón de mayor exploración en VEH+Sal. La velocidad media fue comparable entre todos los grupos (todos los contrastes mayoritariamente dentro de la ROPE). El ajuste de los modelos se comprobó con la evaluación predictiva posterior (Figura 43).

Figura 43
Evaluación posterior predictiva de las variables distancia recorrida y velocidad media



Nota. Fila superior: distancia total recorrida. Fila inferior: velocidad media.

En conjunto, no se observaron diferencias creíbles entre los grupos en la tasa de aprendizaje espacial. Las únicas diferencias creíbles (un mayor número de errores y una mayor distancia recorrida en VEH+Sal frente a VEH+PTZ) acompañan a una mayor actividad exploratoria, con velocidad de desplazamiento equivalente entre los grupos.

5 DISCUSIÓN

El presente estudio se propuso establecer si la macamida (MCH02) ejerce un efecto neuroprotector frente al deterioro de memoria asociado a un modelo experimental de epilepsia por kindling con pentilentetrazol (PTZ). El análisis estadístico de los datos, realizado bajo un marco de estimación bayesiana, mostró que: (i) el grupo sometido al modelo sin tratamiento (VEH+PTZ) presentó un deterioro creíble de la memoria de reconocimiento de objetos, con un índice de discriminación situado por debajo del azar (0.40; HDI del 95% [0.28, 0.54]; P(índice>0.5)=0.08), mientras que ambos grupos tratados con macamida se ubicaron de manera creíble por encima del azar (P>0.96); (ii) no se observó deterioro de la memoria espacial en el laberinto de Barnes (todos los grupos aprendieron y no hubo diferencias creíbles en la tasa de aprendizaje); y (iii) la administración de macamida no modificó de forma creíble la velocidad de la epileptogénesis. Estos hallazgos configuran una disociación: un dominio mnésico resultó vulnerable y protegido (reconocimiento), mientras que el otro permaneció indemne (espacial). Dicha disociación no es anómala: refleja la organización neuroanatómica de ambos tipos de memoria y constituye el eje de la presente discusión.

5.1 Disociación entre memoria de reconocimiento y memoria espacial

El patrón de resultados (deterioro creíble de la memoria de reconocimiento de objetos en el grupo VEH+PTZ [índice 0.40; HDI del 95% [0.28, 0.54]; P[>0.5]=0.08] frente a una memoria espacial preservada en el laberinto de Barnes) refleja, en

el plano conductual, la organización neuroanatómica del lóbulo temporal medial (LTM). El reconocimiento de objetos y la navegación espacial alocéntrica dependen de forma diferencial de dos estructuras: la corteza perirrinal y el hipocampo, respectivamente (Eichenbaum et al., 2007). Esta diferenciación refleja una relación de necesidad, sostenida por una doble disociación lesional robusta y replicada entre especies.

La evidencia más concluyente proviene de diseños que comparan ambos dominios en condiciones idénticas. Barker y Warburton (2011), empleando el mismo aparato, las mismas demoras y los mismos estímulos para todas las tareas, demostraron que las lesiones hipocampales deterioran la memoria de localización de objetos y la memoria asociativa objeto-en-lugar, pero dejan intacto el reconocimiento estándar de objetos a demoras de 5 minutos, 3 horas y 24 horas. De manera especular, las lesiones perirrinales deterioran el reconocimiento del objeto preservando la memoria de lugar. Este control de aparato y de demanda atencional descarta explicaciones alternativas basadas en diferencias de motivación, percepción o respuesta. La cara perirrinal de la disociación está sólidamente establecida: Aggleton et al. (2010) mostraron que las lesiones perirrinales bilaterales deterioran de forma marcada el reconocimiento espontáneo de objetos, mientras que los mismos animales aprenden con normalidad una discriminación visual configural compleja y resuelven sin dificultad la alternancia espacial reforzada en laberinto en T (prueba de memoria de trabajo espacial), lo que demuestra que el déficit es selectivo del reconocimiento de ítems y no un compromiso cognitivo general. Olarte-Sánchez et al. (2015) refinaron esta noción: las lesiones perirrinales deterioran las pruebas de elección simultánea novedoso-familiar pero preservan la detección

secuencial de novedad, indicando que la corteza perirrinal es crucial para ligar la señal de familiaridad al objeto correcto más que para generar la señal de novedad per se. En el sentido inverso, monos y ratas con daño hipocampal selectivo se desempeñan con normalidad en tareas de no-igualación demorada a la muestra (DNMS) incluso a demoras largas, mientras que el daño perirrinal produce déficits severos y de aparición rápida en esas mismas tareas (Eichenbaum et al., 2007). Esta doble disociación se asienta en mecanismos neurales distintos. Las neuronas perirrinales (y de la corteza entorrinal lateral) exhiben efectos de repetición específicos de estímulo (una supresión de la tasa de disparo ante objetos familiares) que constituyen una señal de familiaridad capaz de sostener el reconocimiento sin participación hipocampal. En el plano cognitivo computacional, la corteza perirrinal ocupa el vértice de la corriente visual ventral y almacena representaciones conjuntivas complejas de los rasgos que definen al objeto, lo que permite discriminar ítems que comparten rasgos individuales (Eichenbaum et al., 2007; Cowell et al., 2006). El hipocampo, en cambio, no muestra efectos de repetición específicos de ítem. Sus células de lugar construyen un mapa espacial del entorno y codifican asociaciones entre estímulos, posiciones y contexto conductual, sosteniendo la autolocalización y la consolidación de rutas necesarias para la navegación alocéntrica (Redish y Touretzky, 1998; Brandeis et al., 1989). Esta especialización se corrobora a nivel molecular: los estudios de genes de expresión temprana inmediata (IEG) muestran que la exposición a objetos individuales novedosos induce Fos preferentemente en la corteza perirrinal y entorrinal lateral (pero no en el hipocampo ni en la corteza postrrinal), mientras que los reordenamientos espaciales novedosos y el aprendizaje espacial inducen Fos en el hipocampo y la corteza

postrrinal, pero no en la perirrinal (Eichenbaum et al., 2007).

Esta segregación funcional se sustenta, además, en vías anatómicas paralelas. La corteza perirrinal recibe información sensorial polimodal y proyecta, vía corteza entorrinal lateral (CEL), al hipocampo, constituyendo una corriente ventral del "qué" para el procesamiento del ítem. La corteza postrrinal/parahipocampal recibe información predominantemente visuoespacial y proyecta, vía corteza entorrinal medial (CEM), formando una corriente dorsal del "dónde" (Eichenbaum et al., 2007; Cinalli et al., 2020). Ambas corrientes convergen en el hipocampo, donde la información del ítem y la del contexto se integran para sostener la memoria episódica de tipo asociativo. La corteza prefrontal medial (CPFm) se incorpora cuando la tarea exige integrar objeto y lugar o juzgar el orden temporal: el reconocimiento objeto-en-lugar y la memoria de orden temporal requieren la actuación coordinada de corteza perirrinal, hipocampo y CPFm como red, mientras que la simple discriminación novedoso-familiar depende esencialmente de la corteza perirrinal sola (Barker et al., 2007).

Esta arquitectura es decisiva para interpretar nuestros resultados, porque define con precisión qué evaluó cada prueba. La tarea de reconocimiento empleada en esta tesis midió específicamente el reconocimiento de la identidad del objeto: tras 24 horas se sustituyó uno de los objetos por uno nuevo manteniendo constantes la posición y el contexto. Se trata, por tanto, de un reconocimiento basado en la familiaridad del ítem (la operación prototípicamente perirrinal) y no de un reconocimiento espacial o contextual que reclutaría al hipocampo. El laberinto de Barnes, por el contrario, evalúa navegación espacial alocéntrica, función nuclear del mapa hipocampal. La disociación observada (reconocimiento deteriorado, memoria espa-

cial intacta) mapea así de forma directa sobre la disociación perirrinal/hipocampal: el modelo afectó preferentemente el sustrato del reconocimiento de objetos y respetó funcionalmente el sustrato de la memoria espacial.

Conviene, no obstante, matizar la dicotomía para no sobreinterpretarla. La separación “perirrinal = objeto / hipocampo = espacio” es nítida para el reconocimiento simple de ítems frente a la navegación, pero se torna más matizada en tareas complejas. El hipocampo deviene necesario cuando el reconocimiento incorpora componentes espaciales, contextuales o episódicos fuertes: Langston y Wood (2010) mostraron que las lesiones hipocampales deterioran la memoria de reconocimiento objeto-lugar-contexto, que exige ligar múltiples tipos de información. Asimismo, Cinalli et al. (2020) refinaron la dicotomía en términos de fuerza de la memoria: la inactivación de la corteza perirrinal deteriora la memoria de objeto débil (derivada de una exploración limitada) y respeta la memoria fuerte, mientras que la inactivación de CA1 produce el patrón opuesto. La expresión de c-Fos y Arc confirmó que la memoria de objeto débil se asocia a actividad perirrinal y la memoria de objeto/evento fuerte recluta CA1. Esta matización, lejos de debilitar nuestra interpretación, la fortalece: dado el carácter de ítem único, la constancia espacial y la ausencia de componente contextual o de localización en nuestra prueba, la lectura perirrinal sigue siendo la más parsimoniosa para el déficit observado, y la indemnidad del desempeño espacial en Barnes es coherente con un hipocampo funcionalmente preservado. Esta inferencia, derivada de la literatura y no de confirmación histológica propia, debe tomarse con la cautela que impone la utilización de una sola prueba por dominio.

5.1.1 Vulnerabilidad diferencial de la corteza perirrinal y el hipocampo en el kindling por PTZ

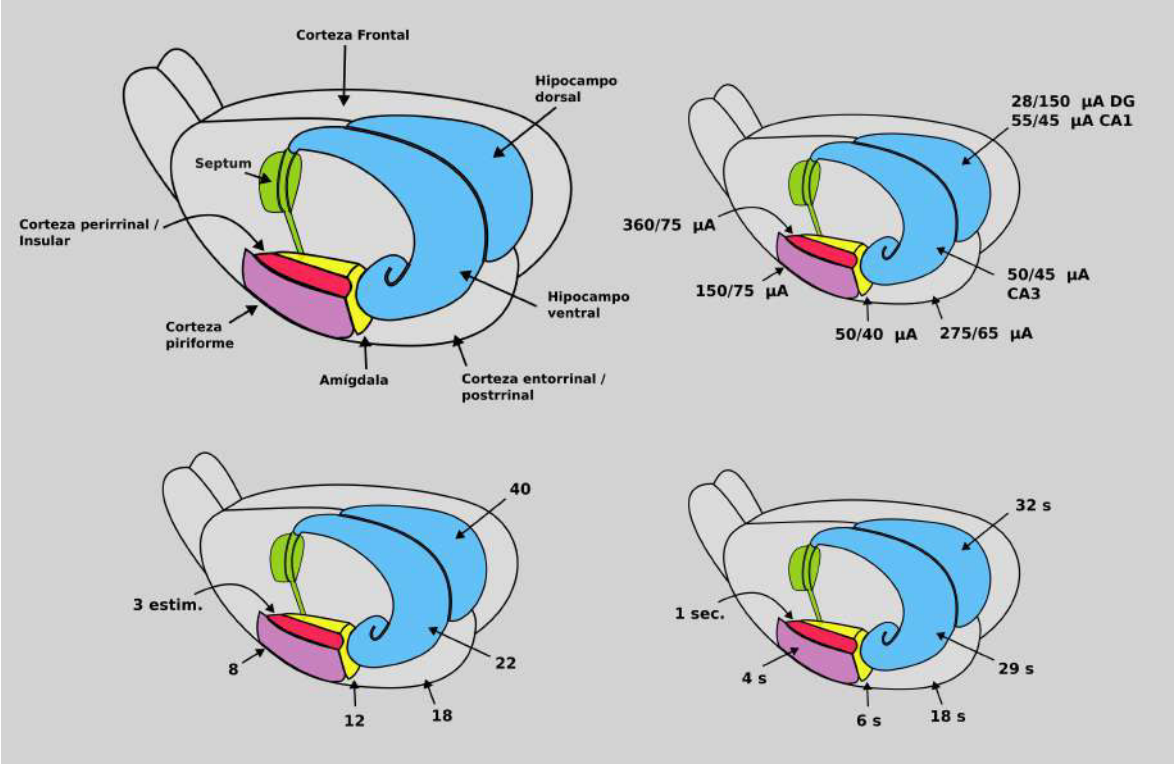
La disociación conductual plantea de inmediato una pregunta: ¿por qué un modelo de epilepsia (tradicionalmente asociado al hipocampo y a la esclerosis hipocampal) produjo un déficit de reconocimiento (perirrinal) y no de memoria espacial (hipocampal)? La respuesta descansa en una disociación bien documentada entre susceptibilidad epileptogénica y daño estructural, y en la naturaleza misma del modelo PTZ.

En cuanto a la susceptibilidad, existe un ordenamiento claro de las velocidades de kindling entre estructuras límbicas del prosencéfalo. La corteza perirrinal es el sitio que kindlea con mayor rapidez: requiere el menor número de estimulaciones para alcanzar la primera convulsión de estadio 5 y exhibe la latencia más breve desde el estímulo hasta la crisis conductual. El hipocampo dorsal, en el extremo opuesto, es la estructura más lenta, con las mayores latencias de reclutamiento (McIntyre y Gilby, 2008). Este diferencial se replica de forma robusta tanto en cepas propensas como resistentes al kindling, lo que lo confirma como un fenómeno consistente y no un artefacto de cepa (Vismer et al., 2015). La rapidez perirrinal se atribuye a sus extensas conexiones con el sistema motor: la corteza perirrinal opera como amplificador y compuerta de la propagación de las crisis límbicas hacia las áreas motoras frontales, de modo que su reclutamiento es lo que permite la expresión convulsiva generalizada (McIntyre y Gilby, 2008; Vismer et al., 2015). Su papel es causal y no meramente correlacional: cuando la corteza perirrinal/insular se daña sustancialmente, se previenen las convulsiones de estadio 5 aunque persista la actividad ictal hipocampal normal, y el pre-lesionado perirrinal incrementa

la latencia a la crisis, efecto protector que la ablación del hipocampo no reproduce (McIntyre y Gilby, 2008; Vaughan y Jackson, 2014). El hipocampo, en contraste, no solo kindlea más lentamente, sino que puede ejercer un control supresor sobre los generadores ictales corticales: en preparaciones entorrino-hipocampales, la actividad interictal del hipocampo/giro dentado suprime los eventos ictales corticales, y la sección de esa vía elimina dicho control (McIntyre y Gilby, 2008). La Figura 44 resume este ordenamiento de umbrales, velocidades de kindling y latencias de reclutamiento entre las estructuras límbicas del prosencéfalo.

Figura 44

Mapa de las regiones cerebrales límbicas y sus características convulsivas en vista lateral



Nota. El panel superior izquierdo identifica las estructuras corticales límbicas y parahipocampales consideradas. El panel superior derecho muestra los umbrales de posdescarga focal (ADT, en µA) antes y después del kindling (separados por una barra "/"); destacan los ADT elevados de las estructuras corticales antes del kindling y los del giro dentado después de este. El panel inferior izquierdo presenta las tasas de kindling (número de estimulaciones hasta la primera convulsión de estadio 5), más rápidas en el área perirrinal/insular y más lentas en el hipocampo dorsal. El panel inferior derecho muestra que, una vez establecidas las convulsiones de estadio 5, las latencias hasta el inicio del clonus desde el estímulo (tiempo de reclutamiento) son más breves en la corteza perirrinal/insular

y más prolongadas en el hipocampo dorsal. Adaptado de McIntyre y Gilby (2008), con licencia n.º 6298920210885 de John Wiley and Sons para uso no comercial en tesis.

El punto crucial es la paradoja entre esta elevada epileptogenicidad perirrinal y su escaso daño estructural macroscópico. La corteza perirrinal no aparece manifiestamente dañada en los modelos de epilepsia del lóbulo temporal (circunstancia que explica, en parte, por qué ha sido históricamente menos estudiada que el hipocampo) sino que muestra una pérdida selectiva de interneuronas inhibitorias sin pérdida comparable de neuronas principales (Biagini et al., 2013). En el modelo de pilocarpina, tomado como referencia ante la escasez de datos específicos para PTZ en esta región, las interneuronas parvalbúmina-positivas (PV) reducen su recuento en cerca de un 50 % ya hacia el día 3 tras el estatus epiléptico (pasando de representar aproximadamente el 68 % al 56 % del total de interneuronas teñidas) y poblaciones de NPY y CCK muestran alteraciones marcadas y dependientes de la edad (con pérdidas sostenidas en adultos: NPY a menos del 50 % y CCK a ~20 % del control), mientras que los recuentos de neuronas principales permanecen similares al control o muestran descensos no significativos (~10 %) (Biagini et al., 2013). Esta pérdida selectiva de inhibición desplaza el balance excitación/inhibición de los circuitos perirrinales hacia la excitación y genera una hiperexcitabilidad de red, particularmente en las capas profundas, con descargas epileptiformes sincrónicas con la corteza entorrinal. Mecanísticamente, esta hiperexcitabilidad depende de la transmisión glutamatérgica: la actividad del receptor NMDA es necesaria para la sincronización de la red perirrinal y la propagación, mientras que los receptores AMPA resultan críticos para la iniciación de la crisis (Biagini et al., 2013; Vismer et al., 2015). A nivel estructural sutil, en pacientes con

epilepsia del lóbulo temporal se observan reducciones volumétricas de la corteza perirrinal incluso cuando los volúmenes hipocampales son normales, lo que evidencia un proceso patológico independiente de la esclerosis hipocampal (Biagini et al., 2013).

Esta disfunción, y no necesariamente la muerte neuronal masiva, basta para degradar el reconocimiento. Las representaciones conjuntivas que sostienen los juicios de familiaridad requieren una dinámica inhibitoria-excitatoria equilibrada. La disinhibición y la hiperexcitabilidad perirrinales degradan la fidelidad de la señal de familiaridad, y dado que el reconocimiento depende de una transmisión glutamatérgica normal en la corteza perirrinal, la desregulación NMDA/AMPA inducida por las crisis compromete directamente los cómputos de la discriminación (Biagini et al., 2013; Cowell et al., 2006). El vínculo es además clínicamente directo: en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal, el desempeño en memoria de reconocimiento correlaciona con el metabolismo interictal entorrinal/perirrinal, lo que conecta la disfunción perirrinal persistente (presente entre crisis) con el deterioro del reconocimiento (Biagini et al., 2013).

El hipocampo, por el contrario, es el blanco prototípico de la neurodegeneración por kindling con PTZ, pero esta requiere típicamente un insulto más severo. Los mecanismos descritos incluyen estrés oxidativo (elevación de MDA, 4-HNE y carbonilos proteicos, con descenso de SOD, CAT y GSH), estrés de retículo endoplásmico dependiente de nNOS (cuya activación, vía NMDA, genera peroxinitrito que daña la mitocondria y nitrosila los sensores de estrés del retículo), disfunción mitocondrial y muerte neuronal apoptótica (Zhu et al., 2017; Łukawski y Czuczwar, 2023; Naseer et al., 2009; Ahmed y Kamel, 2020). A la intensidad y cronología

de nuestro protocolo de kindling, es plausible que el hipocampo no alcanzara el umbral de daño necesario para expresar estos cambios de forma funcionalmente relevante, preservándose así su desempeño espacial. La corteza perirrinal, en cambio, no necesita ese grado de lesión para manifestar disfunción, pues le basta una disinhibición sutil.

A esta interpretación se añade una precisión sobre el modelo que reencuadra la expectativa inicial, centrada en el hipocampo. El kindling por PTZ recapitula mejor la epilepsia generalizada (con crisis mioclónicas y tónico-clónicas generalizadas) que la epilepsia focal del lóbulo temporal. Jiji et al. (2025) clasifican explícitamente el modelo PTZ como productor de crisis “tónico-clónicas generalizadas y mioclónicas” y señalan que el kindling crónico “imita estrechamente las crisis tónico-clónicas generalizadas en humanos”. Shimada y Yamagata (2018) coinciden en que el PTZ, antagonista del receptor GABA-A, induce crisis generalizadas con una progresión semiológica que va de la mioclonía a la crisis tónico-clónica. Aunque el PTZ puede inducir algunas alteraciones histopatológicas afines a la epilepsia del lóbulo temporal (brote de fibras musgosas, gliosis, pérdida neuronal hipocampal), su fenotipo convulsivo es generalizado, y los modelos de ácido kaínico, pilocarpina o kindling eléctrico amigdalino/hipocampal resultan más apropiados para la epilepsia focal (Jiji et al., 2025; Shimada y Yamagata, 2018). Decisivamente, la generalización en el PTZ recluta de manera prominente la circuitería perirrinal/parahipocampal como vía de propagación hacia las áreas motoras (McIntyre y Gilby, 2008; Vismer et al., 2015), lo que ofrece una explicación coherente de por qué el dominio perirrinal (y no el hipocampal) resultó preferentemente comprometido.

En conjunto, el déficit de reconocimiento observado se interpreta de forma más parsimoniosa como una disrupción funcional de la corteza perirrinal (disinhibición e hiperexcitabilidad derivadas de la pérdida selectiva de interneuronas) y no como consecuencia de una pérdida neuronal masiva, mientras que la función espacial hipocampal se preservó a la intensidad de este protocolo. Esta lectura mecanística, sustentada en la literatura más que en confirmación histológica o bioquímica propia (actividad de FAAH, marcadores de daño perirrinal frente al hipocampal), por ahora debe tomarse con cautela, según se detalla en el apartado de limitaciones.

5.1.2 El reconocimiento deteriorado frente a la memoria espacial preservada

El patrón observado (un deterioro circunscrito a la memoria de reconocimiento de objetos evaluada a 24 horas, sin compromiso del aprendizaje espacial) no constituye una anomalía dentro de la literatura sobre las consecuencias cognitivas del kindling por pentilentetrazol (PTZ), sino que se inscribe en una de sus regularidades más consistentes: la de un efecto selectivo, modulado por la dosis, la frecuencia de administración, la cepa y, de manera especialmente relevante, por el tipo y la antigüedad de la memoria evaluada. Becker et al. (1992), en uno de los primeros trabajos en caracterizar las secuelas cognitivas del kindling con PTZ, documentaron precisamente esta selectividad: no hallaron afectación de la memoria a corto plazo ni del aprendizaje asociativo a largo plazo evaluado mediante discriminación por brillo, pero sí un deterioro marcado del aprendizaje de evitación de dos vías a largo plazo. Genkova-Papazova y Lazarova-Bakarova (1995), empleando un diseño afín, confirmaron y extendieron este hallazgo al observar que el déficit de evitación de dos vías se hacía manifiesto en un re-test a los siete días, lo que sugiere que las representaciones de largo plazo (consolidadas y recuperadas tras

demoras prolongadas) son más vulnerables que las de corto plazo. Esta gradación temporal de la vulnerabilidad fue corroborada posteriormente por Mishra y Goel (2012), quienes describieron un deterioro de aprendizaje y memoria dependiente de la edad en ratones kindleados con PTZ, y por Mishra y Goel (2013), que vincularon dicho déficit a alteraciones neuroquímicas específicas. Nuestro hallazgo (un deterioro del reconocimiento medido tras una demora de 24 horas, esto es, en el rango de la memoria de largo plazo) encaja con naturalidad en este cuerpo de evidencia: el modelo no degrada de manera homogénea toda la cognición, sino que compromete preferentemente determinadas operaciones mnésicas de largo plazo. La preservación de la memoria espacial, por su parte, exige una lectura cuidadosa, pues contrasta con estudios que sí han reportado déficits espaciales tras kindling con PTZ. Mortazavi et al. (2005), utilizando el laberinto acuático de Morris, hallaron deterioro espacial acompañado de conductas de tipo ansioso y depresivo, si bien bajo un protocolo de menor dosis y menor número de inyecciones que el del presente trabajo (30 mg/kg y 14 inyecciones, frente a 35 mg/kg y 17 inyecciones), y con una dosis de desafío administrada de forma distinta. Un estudio de Szyndler et al. (2006) también reportó deterioro espacial en el laberinto de Morris, asociado a concentraciones disminuidas de glutamato en estriado e hipocampo. Varias consideraciones permiten reconciliar esta aparente divergencia. La primera es de orden estrictamente metodológico: las diferencias de protocolo (dosis, frecuencia de inyección, cronología del desafío convulsivo) modulan tanto la severidad del modelo como el perfil de las secuelas, de modo que no cabe esperar una correspondencia exacta entre estudios. La segunda atañe a la sensibilidad diferencial de los ensayos. El laberinto acuático de Morris es una tarea acuática, intrínsecamen-

te más estresante y aversiva, y se considera más sensible al daño hipocampal que el laberinto de Barnes, que es seco, menos aversivo y, en nuestro caso, se aplicó durante solo cuatro días (Othman, Hassan y Che Has, 2022; Dyomina et al., 2023). Un déficit espacial sutil podría, por tanto, no haberse expresado bajo las condiciones (de menor demanda y menor presión motivacional) de nuestro protocolo de Barnes, sin que ello implique una integridad espacial absoluta.

Una tercera consideración invoca factores no mnésicos capaces de sostener o incluso favorecer el desempeño espacial en los animales tratados con PTZ, enmascarando un eventual déficit leve. Está bien establecido que el PTZ a dosis bajas puede ejercer efectos facilitadores sobre la adquisición y la consolidación (Irwin y Benuazizi, 1966; Krivanek y McGaugh, 1968; Krivanek, 1971; Bauer, 1972). A ello se añade que el PTZ incrementa la transmisión monoaminérgica que regula al alza la vigilia, la alerta y la motivación (Dazzi et al., 1997; Becker et al., 2000; Scammell et al., 2017), variables que inciden directamente sobre el rendimiento en tareas apetitivas o de escape. La hora de evaluación (realizada en fase de luz, periodo de reposo de la rata) pudo asimismo modular el desempeño y la comparabilidad entre grupos, dado el peso del momento del día como variable biológica crítica (Nelson et al., 2021). Este conjunto de factores aconseja interpretar con especial prudencia el único contraste creíble detectado en el laberinto de Barnes: el grupo VEH+Sal cometió más errores y recorrió mayor distancia que el grupo VEH+PTZ, con una velocidad equivalente entre todos los grupos. Lejos de constituir un “beneficio” espacial inducido por el PTZ, este patrón (más agujeros visitados y trayectos más largos, con idéntica velocidad de desplazamiento) es coherente con una mayor actividad exploratoria del grupo control, y no con una ventaja

de memoria espacial del grupo kindleado. La equivalencia de velocidad descarta además que la diferencia sea un artefacto de movimiento, y refuerza la lectura de que la dimensión propiamente mnésico-espacial permaneció indemne en todos los grupos.

Finalmente, conviene reencuadrar la magnitud comparativamente modesta y la selectividad de los efectos del kindling por PTZ como una ventaja interpretativa más que como una limitación. El modelo de pilocarpina, ampliamente utilizado para la epilepsia del lóbulo temporal, produce alteraciones cognitivas mucho más severas, pero a menudo tan profundas que el repertorio conductual de los animales se deteriora de manera global y adquiere rasgos de tipo psicótico, lo que confunde la lectura de las pruebas: los animales pueden saltar fuera de los laberintos o perder la aversión a los espacios abiertos por un colapso general del repertorio conductual, y no por procesos ansiosos o mnésicos específicos (Faure et al., 2013; Dyomina et al., 2023). La sutileza y la selectividad del PTZ permiten, por el contrario, atribuir con mayor confianza el déficit observado a un proceso mnésico circunscrito (el reconocimiento de identidad de objeto, de sustrato perirrinal) en lugar de a un deterioro conductual inespecífico. La disociación reconocimiento/espacial que vertebra esta tesis es, en este sentido, tanto un hallazgo como un signo de la validez del modelo para aislar comorbilidades cognitivas dominio-específicas.

5.2 El efecto protector de la macamida sobre la memoria de reconocimiento

El hallazgo central de este trabajo es que la macamida se asoció con la preservación de la memoria de reconocimiento en los animales sometidos al modelo: el grupo MCH02+PTZ se ubicó de manera creíble por encima del azar (P>0.96) y por encima del grupo VEH+PTZ (diferencia de 0.21; HDI del 95% [0.03, 0.39]; interva-

lo que excluye el cero; P=0.99), sin diferencias locomotoras que pudieran explicar el resultado. La protección, por tanto, es específica: emerge precisamente en el dominio mnésico (y en la condición experimental) en que el modelo produjo daño. Esta especificidad encuentra una explicación coherente al integrar la identidad química del compuesto, su mecanismo farmacológico y el sustrato anatómico del reconocimiento.

Las macamidas son una clase de N-bencilamidas de ácidos grasos de cadena larga, exclusivas de *Lepidium meyenii* Walp. (maca), que actúan como inhibidores irreversibles de la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) con cinética de inhibición dependiente del tiempo (Zhao et al., 2024; Nicoara et al., 2025). Entre los derivados caracterizados, la N-benciloctadeca-9Z,12Z-dienamida exhibe la actividad inhibidora de FAAH más potente y ha mostrado, además, capacidad de atenuar el daño isquémico cerebral (Zhao et al., 2024). Dado que la FAAH es la enzima primaria de degradación de la anandamida (AEA), su inhibición eleva la biodisponibilidad de este endocannabinoide y potencia la señalización del sistema endocannabinoide (SEC) de manera indirecta, sin que el fármaco actúe como agonista directo del receptor CB1 (Alasmari et al., 2019; Medina-Saldivar, Pardo y Pacheco-Otalora, 2024). Esta distinción (indirecta frente a directa) constituye el eje de todo el argumento neuroprotector.

El contraste farmacológico es nítido y está respaldado por evidencia experimental directa. Los agonistas directos de CB1 (p. ej., WIN55,212-2 o el Δ9-THC), pese a poseer efectos anticonvulsivos mediados por CB1, tienden a deteriorar la plasticidad sináptica y la memoria, porque imponen una activación tónica y no contingente de los receptores CB1 en circuitos enteros, suprimiendo la liberación de glu-

tamato incluso durante las condiciones de codificación que requieren transmisión normal (Wise et al., 2012; Hasanein y Teimuri Far, 2015; Montebello y Di Giovanni, 2025). Los inhibidores de FAAH, en cambio, preservan el carácter “a demanda” de la señalización endocannabinoide: los endocannabinoides se sintetizan postsinápticamente en respuesta a incrementos de calcio o a la activación de receptores acoplados a proteína G, y se degradan con rapidez. La inhibición de FAAH amplifica esa señal solo donde y cuando la AEA se está liberando, esto es, en las sinapsis que experimentan hiperexcitabilidad patológica, dejando esencialmente intacta la plasticidad fisiológica (Colangeli et al., 2017; Ren et al., 2020). En el estudio seminal de Colangeli et al. (2017), el inhibidor de FAAH URB597, a dosis anticonvulsivas (1 mg/kg), no alteró la potenciación a largo plazo (LTP) ni la facilitación por pulsos pareados en ratas sanas, mientras que WIN55,212-2 deterioró de forma dosis-dependiente tanto la plasticidad a corto plazo como la LTP en el mismo preparado, efectos revertidos por el antagonista de CB1 AM251. De manera decisiva, tras la actividad convulsiva inducida (activación máxima del giro dentado), ambas formas de plasticidad quedaron severamente disrumpidas. URB597 restauró la LTP a niveles control y preservó la facilitación por pulsos pareados, en tanto que WIN55,212-2 no rescató ninguna de las dos. La inhibición de FAAH, por tanto, no solo evita el daño cognitivo, sino que protege activamente frente al deterioro de la plasticidad causado por la actividad epiléptica.

Los mecanismos que sustentan esta divergencia son varios y convergentes. Primero, la selectividad espaciotemporal: la elevación de AEA ocurre únicamente en las sinapsis activas, lo que permite amortiguar los circuitos patológicos sin silenciar globalmente las vías relevantes para la plasticidad (Colangeli et al., 2017). Se-

gundo, un componente de desinhibición GABAérgica: el aumento de AEA puede actuar sobre los receptores CB1 de las terminales de interneuronas, produciendo un efecto desinhibitorio que favorece la LTP sin comprometer la actividad neuronal fisiológica, a diferencia de la supresión glutamatérgica amplia y costosa que provocan los agonistas directos (Colangeli et al., 2017; Diana y Marty, 2004). Tercero, una farmacología multimodal no restringida a CB1: la FAAH degrada, además de la AEA, congéneres como la palmitoiletanolamida (PEA) y la oleoiletanolamida (OEA), de modo que su inhibición eleva también estos lípidos, los cuales actúan sobre PPARα y TRPV1 con efectos antiinflamatorios, antiepilépticos y neuroprotectores que los agonistas directos no reproducen (el denominado “efecto séquito” o *entourage* [Lago-Fernandez, Zarzo-Arias et al., 2021; Bortoletto et al., 2022; Kanwal et al., 2024]). La PEA, en particular, reduce la frecuencia y la severidad de las crisis en modelos animales mediante soporte indirecto de CB1 más señalización PPARα/TRPV1 (Bortoletto et al., 2022). Cuarto, una acción antiinflamatoria robusta: los inhibidores de FAAH promueven la transición de la microglía desde el fenotipo proinflamatorio M1 hacia el antiinflamatorio M2, inhiben la COX-2, la PGE2 y la iNOS, suprimen citoquinas proinflamatorias y desorganizan la interacción NLRP3–FAAH que conduce a la degradación del inflamasoma (Zhao et al., 2024). Este componente es especialmente pertinente porque la neuroinflamación es un motor reconocido del deterioro cognitivo asociado a la epilepsia.

La generalidad del principio (que el realce indirecto del tono endocannabinoide protege la cognición) se confirma además con evidencia convergente sobre la inhibición de la monoacilglicerol lipasa (MAGL). El compuesto 4f, un inhibidor reversible de MAGL con penetración cerebral, mejoró el desempeño en la prueba de

reconocimiento de objetos (NOR), atenuó la neuroinflamación y previno la pérdida neuronal hipocampal (CA1/CA3) en un modelo de neurodegeneración por ácido kaínico, con un papel primario del receptor CB1 en la protección (Arimura et al., 2024). Esta concordancia entre la inhibición de FAAH (vía AEA) y la de MAGL (vía 2-AG) refuerza la interpretación de que es el modo indirecto de realce, y no la activación directa del receptor, lo que confiere protección.

Más allá de la epilepsia, la literatura sobre macamidas documenta un perfil neuroprotector amplio que converge con el presente resultado: protegen frente al estrés oxidativo y la neurotoxicidad inducida por H_2O_2 en neuronas en cultivo (Malík y Tlustoš, 2023; Chakrovorty et al., 2023), reducen el tamaño de infarto en isquemia cerebral focal en rata (Castro García, 2021; Chakrovorty et al., 2023), revierten el déficit cognitivo inducido por escopolamina mediante inhibición de la acetilcolinesterasa e incrementan la disponibilidad de BDNF hipocampal (Chakrovorty et al., 2023; Gugnani et al., 2018; Yu et al., 2021), y se han asociado a la preservación de la función cognitiva por mejora de la actividad mitocondrial y la autofagia (Malík y Tlustoš, 2023). Es relevante, además, que los efectos centrales de las macamidas descansan sobre una base endocannabinoide y no dopaminérgica: la macamida sintética MCH1, un inhibidor irreversible de FAAH, ejerció efectos de tipo antidepresivo en ratón aumentando la expresión de *Cnr1* (receptor CB1) en el núcleo accumbens y la de *Faah* (un alza compensatoria ante la inhibición enzimática irreversible), sin modificar los genes dopaminérgicos *Drd1* y *Drd2* (Medina-Saldivar et al., 2024; Ybañez-Julca et al., 2021).

Este perfil “que preserva la cognición” explica por qué la macamida, pese a actuar sobre el SEC, protegió en lugar de deteriorar el reconocimiento, contra lo que ca-

bría anticipar por analogía con los agonistas cannabinoides clásicos. La inferencia más parsimoniosa es que la macamida amortiguó la disfunción del circuito perirrinal hiperexcitable (rico en señalización endocannabinoide) elevando el tono de AEA precisamente allí donde la red estaba descompensada, lo que daría cuenta de la especificidad del efecto sobre el reconocimiento y de la ausencia de acción sobre el dominio espacial, que no resultó deteriorado y donde, por tanto, no había déficit que revertir. La cronología del protocolo es compatible con esta lectura: bajo la inhibición sostenida de FAAH, la elevación del tono de AEA puede persistir hasta unas 24 horas tras la dosis, abarcando la ventana de prueba del reconocimiento (Murphy et al., 2012). No obstante, conviene mantener la cautela que impone el solapamiento con la región de equivalencia práctica: la magnitud exacta de la protección permanece como un efecto direccional y creíble, aunque con límites que el diseño no permite estrechar por completo.

5.3 La macamida y la epileptogénesis

El análisis del proceso de kindling no aportó evidencia creíble de que la macamida modifique su velocidad. Tomando al animal como unidad de análisis (la unidad pertinente, dado que cada sujeto contribuye con una única latencia de kindling), la prueba de log-rank por sujeto resulta no significativa (χ^2=2.50, gl=1, p=0.11), y el modelo bayesiano de tiempo de falla acelerada (AFT) sitúa el efecto como indeciso respecto de la región de equivalencia práctica (factor de aceleración ≈0.79; HDI del 95% que cruza la ROPE; P(antes con macamida)=0.89). En suma, no existe evidencia creíble de que la macamida modifique la velocidad de la epileptogénesis en este protocolo.

Esta reinterpretación es, además, congruente con la farmacología del compuesto.

Por su acción inhibidora de FAAH, cabría esperar a priori un efecto más bien anticonvulsivo que proconvulsivo: el bloqueo de la degradación de AEA y de 2-AG protege frente a las crisis y la citotoxicidad inducidas por ácido kaínico, y la activación de CB1 (especialmente en las aferencias glutamatérgicas hipocampales) es crucial para la reducción de la excitabilidad ictal (Lourenço et al., 2020; Colangeli et al., 2017). En la propia comparación de Colangeli et al. (2017), el inhibidor de FAAH URB597 suprimió las posdescargas máximas del giro dentado. Por ello, incluso la débil tendencia hacia un kindling “más rápido” observada en nuestros datos debe tomarse con cautela y no leerse como evidencia de un efecto proconvulsivo.

La dificultad de predecir el saldo neto sobre la epileptogénesis se deriva, en buena medida, de la propia complejidad del SEC. Los receptores CB1 se expresan tanto en terminales glutamatérgicas como GABAérgicas, lo que da lugar a fenómenos opuestos (la supresión de la excitación y la supresión de la inhibición inducidas por despolarización [DSE y DSI]) cuyo efecto de red depende del estado del circuito (Diana y Marty, 2004). Durante la hiperexcitabilidad, sin embargo, predomina un saldo inhibidor neto, atribuible al subconjunto de receptores CB1 situados en las células principales glutamatérgicas, que constituye el sustrato de la protección endocannabinoide frente a la excitotoxicidad (Monory et al., 2006; Diana y Marty, 2004). En cualquier caso, los datos del presente estudio simplemente no resuelven este punto, y la interpretación correcta no es afirmar un efecto en una u otra dirección, sino reconocer la indecisión.

El mensaje relevante es otro y de mayor alcance. El efecto protector de la macamida sobre la comorbilidad cognitiva (la memoria de reconocimiento) aparece di-

sociado de cualquier acción sobre el desarrollo de las crisis. Esta separación es deseable desde el punto de vista terapéutico, pues indica que la protección de la memoria no está supeditada a una modificación de la epileptogénesis, y replica, a nivel conductual, la propiedad distintiva de los inhibidores de FAAH de disociar el control de las crisis de la integridad cognitiva (Colangeli et al., 2017; Ren et al., 2020). En contraste con los agonistas directos de CB1 (que, cuando reducen las crisis, lo hacen con frecuencia a costa de la plasticidad y, en modelos de epilepsia de ausencia, pueden incluso agravar las descargas [Montebello y Di Giovanni, 2025]), la macamida ilustra una vía farmacológica en la que el beneficio cognitivo puede obtenerse con independencia del efecto, aquí indeciso, sobre la propia epileptogénesis.

5.4 Consideraciones metodológicas

La inferencia estadística de este trabajo se organizó en torno a la estimación de parámetros con intervalos de máxima densidad posterior (HDI) del 95 % y decisiones basadas en una región de equivalencia práctica (ROPE). Esta elección (estimar la magnitud y la dirección de cada efecto, con su incertidumbre explícita, antes de pronunciarse sobre su presencia o ausencia) es la que recomienda la “nueva estadística bayesiana” para diseños como el presente (Kruschke y Liddell, 2018), y resulta especialmente adecuada cuando los tamaños muestrales son pequeños (n = 7–8 por grupo) y varias variables dependientes se apartan de la normalidad: el uso de verosimilitudes ajustadas al soporte de cada variable (Beta para el índice de reconocimiento acotado en [0, 1], Gamma para latencias y variables continuas positivas, binomial negativa para los conteos de errores y modelos censurados para las latencias con techo) permite estimar cualquier cantidad deri-

vada con su intervalo creíble.

Frente a este enfoque, los factores de Bayes (una alternativa habitual) presentan limitaciones que aconsejan relegarlos a un papel secundario. Su valor puede ser muy sensible a la amplitud del prior sobre el efecto, de modo que la "evidencia" puede desplazarse desde lo equívoco hasta lo concluyente solo por ampliar el prior, sin cambio alguno en los datos. Además, en comparaciones entre modelos que difieren en un gran número de parámetros, el factor de Bayes queda dominado por la penalización de complejidad y por la amplitud de los priors más que por los datos (paradoja de Lindley–Bartlett). Por ello, cuando se reportan, se acompañan de su análisis de sensibilidad al prior (Kruschke, 2021).

Tres decisiones de modelado merecen destacarse por su impacto en la interpretación. Primero, la unidad de análisis del kindling es el animal (no la observación animal-por-sesión), pues las sesiones de un mismo sujeto no son independientes. Respetar esta estructura de medidas repetidas es indispensable para no sobreestimar la precisión (Yu et al., 2022). Segundo, en el laberinto de Barnes el día se modeló como un predictor continuo de aprendizaje, de modo que la pregunta científica (¿modifica la macamida la *tasa* de aprendizaje?) se traduce en la interacción grupo × día, evitando la proliferación de parámetros de un diseño factorial saturado. Bajo esta formulación, ninguna interacción grupo × día excluyó el cero, de modo que ni el PTZ ni la macamida alteraron creíblemente el aprendizaje espacial. Tercero, la pregunta del reconocimiento se planteó como una comparación de cada grupo frente al azar (índice = 0.5), además de entre grupos, que es la operación que define la prueba.

El marco aporta, además, una capacidad de la que el enfoque frecuentista carece:

la ROPE permite acumular evidencia a favor de un efecto prácticamente nulo, y no meramente “no rechazar” la hipótesis nula. Esto es lo que hace honesta la afirmación de preservación de la memoria espacial, frente a la falacia de inferir equivalencia a partir de un resultado no significativo. La credibilidad de toda inferencia bayesiana descansa, además, en la convergencia del muestreador: todos los modelos superaron un control exigente ($\hat{R}$ ≤ 1.01, ESS ≥ 10 000, cero transiciones divergentes). El análisis se implementó en *brms*/Stan (Bürkner, 2017; Gelman et al., 2015), con priors débilmente informativos verificados por simulación predictiva, ROPE justificadas a priori, análisis de sensibilidad sistemático y código, datos y semillas públicos para garantizar la reproducibilidad. En conjunto, este reforzamiento del rigor (estimación con cuantificación explícita de la incertidumbre, tamaños de efecto reportados con su HDI [Lakens, 2013; Ben-Shachar et al., 2020] y decisiones transparentes) sustenta la solidez metodológica del trabajo.

5.5 Limitaciones

Varias limitaciones acotan el alcance de las conclusiones y deben ponderarse al interpretarlas.

En primer lugar, se empleó una sola dosis y una única vía de administración de la macamida, lo que impide caracterizar relaciones dosis-respuesta o descartar efectos dependientes de la concentración o de la farmacocinética. En segundo lugar, se utilizó una sola tarea por dominio mnésico, lo que limita la capacidad de localizar inequívocamente el sustrato de la disociación. Aunque el reconocimiento de identidad de objeto y la navegación alocéntrica apuntan, respectivamente, a la corteza perirrinal y al hipocampo, una atribución concluyente requeriría tareas que separen explícitamente ambos componentes (localización de objetos, objeto-

en-lugar, orden temporal), capaces de discriminar la contribución perirrinal de la hipocampal dentro de un mismo aparato y demora. En tercer lugar, el laberinto de Barnes se aplicó durante solo cuatro días y en fase de luz, condiciones que pudieron reducir su sensibilidad a déficits espaciales sutiles y, por tanto, favorecer la conclusión de preservación.

En cuarto lugar, el estudio carece de confirmación histológica (que contrastara el daño perirrinal frente al hipocampal) y bioquímica (actividad de la FAAH, niveles de anandamida y de congéneres como PEA/OEA), de modo que el mecanismo propuesto (protección de un circuito perirrinal hiperexcitable mediante amplificación “a demanda” de la señalización endocannabinoide) permanece como inferencia anclada en la literatura y no como demostración directa en este modelo. En quinto lugar, el modelo de tiempo de falla acelerada trata las sesiones discretas de kindling como tiempo continuo. Un modelo de riesgo en tiempo discreto sería una alternativa preferible, aunque la conclusión cualitativa (ausencia de efecto creíble) no cambiaría. Por último, debe subrayarse una limitación de validez de constructo: como ya se discutió, el modelo de PTZ representa mejor la epilepsia generalizada que la focal del lóbulo temporal, para la cual son más apropiados los modelos de ácido kaínico, pilocarpina o kindling eléctrico (Jiji et al., 2025; Shimada y Yamagata, 2018). Por consiguiente, las inferencias hacia la epilepsia del lóbulo temporal humana son indirectas. En conjunto, la disociación aquí descrita debe considerarse una hipótesis sólida pero provisional, que requiere replicación con medidas conductuales, histológicas y bioquímicas convergentes.

6 CONCLUSIONES

6.1 Impacto del modelo sobre la memoria

El modelo de kindling por PTZ produjo un deterioro creíble y selectivo de la memoria de reconocimiento de objetos (con un índice de reconocimiento situado por debajo del azar en el grupo VEH+PTZ), sin afectar la memoria espacial evaluada en el laberinto de Barnes, donde todos los grupos aprendieron y la única diferencia creíble (más errores y mayor distancia recorrida en VEH+Sal, con velocidad equivalente entre grupos) corresponde a un patrón de actividad exploratoria y no a un déficit mnésico. El impacto del modelo fue, por tanto, específico de dominio, congruente con la dependencia diferencial del reconocimiento de identidad respecto de la corteza perirrinal y de la navegación alocéntrica respecto del hipocampo. Esta disociación es el eje de la interpretación del trabajo y refuerza la utilidad del modelo para aislar comorbilidades cognitivas circunscritas.

6.2 Efecto de la macamida sobre el reconocimiento

La administración de macamida se asoció con la preservación de la memoria de reconocimiento en los animales sometidos al modelo: el grupo MCH02+PTZ se ubicó de manera creíble por encima del azar y por encima del grupo VEH+PTZ (diferencia de 0.21; HDI del 95 % [0.03, 0.39]; P = 0.99), sin diferencias locomotoras que pudieran explicar el efecto como un artefacto de actividad. La protección coincidió así con el déficit: apareció precisamente en el dominio y la condición en que el modelo produjo daño. Estos resultados apoyan, con la cautela que impone

el solapamiento de la magnitud del efecto con la ROPE, un efecto neuroprotector de la macamida sobre el reconocimiento, coherente con el perfil preservador de la cognición de los inhibidores de la FAAH.

6.3 Efecto de la macamida sobre la memoria espacial

No se halló un efecto creíble de la macamida sobre el aprendizaje ni sobre el desempeño espacial: ninguna interacción grupo × día en el laberinto de Barnes alteró creíblemente la tasa de aprendizaje. Dado que el modelo no deterioró la memoria espacial, no existía un déficit que revertir, por lo que la hipótesis de una protección en este dominio no resultó comprobable en las presentes condiciones. Este resultado es coherente con la naturaleza “a demanda” del mecanismo propuesto, que ampliaría la señalización endocannabinoide allí donde se expresa la hiperexcitabilidad patológica (el circuito perirrinal afectado) sin actuar sobre un sustrato hipocampal que permaneció funcionalmente indemne.

6.4 Efecto sobre la epileptogénesis

El análisis no aportó evidencia creíble de que la macamida acelere el kindling: tomando al animal como unidad de análisis, la prueba de log-rank resulta no significativa ($p = 0.11$) y el modelo bayesiano de tiempo de falla acelerada deja el efecto indeciso respecto de la ROPE. En consecuencia, la protección cognitiva de la macamida aparece disociada del desarrollo de las crisis, una separación terapéuticamente deseable, pues sugiere que la preservación de la memoria no depende de una modificación de la epileptogénesis.

6.5 Objetivo general

En conjunto, los resultados ofrecen un apoyo parcial a la hipótesis de un efecto neuroprotector de la macamida frente al deterioro de memoria asociado al modelo de epilepsia. Dicho efecto se circunscribe a la memoria de reconocimiento (el dominio que el modelo efectivamente comprometió) y no se extiende, en estas condiciones, a una protección global de la cognición ni a una modificación del curso convulsivo. La contribución del compuesto debe entenderse, pues, como una neuroprotección específica de dominio de la comorbilidad cognitiva, hipótesis cuya confirmación exige replicación con mayor potencia y medidas convergentes.

6.6 Aporte metodológico

El uso de estimación bayesiana (HDI + ROPE) permitió inferencias informativas y robustas. Al privilegiar la estimación de la magnitud y la dirección de los efectos, al permitir evidencia a favor de la equivalencia práctica mediante la ROPE y al someter cada conclusión a análisis de sensibilidad y a controles de convergencia, el trabajo fortalece la reproducibilidad y la interpretación acumulativa de la evidencia.

7 RECOMENDACIONES

i) Se recomienda replicar y extender el protocolo experimental, introduciendo variaciones paramétricas del modelo de PTZ. La evaluación sistemática de dosis alternativas, frecuencias de administración y esquemas de kindling, así como la inclusión de intervalos más prolongados entre la última crisis y la evaluación conductual, permitiría determinar si posibles alteraciones cognitivas emergen bajo condiciones fisiopatológicas distintas o en fases temporales más tardías del proceso epileptogénico.

ii) Conviene ampliar la batería de pruebas conductuales a otros dominios cognitivos potencialmente afectados por la epilepsia. Más allá de la memoria espacial y de reconocimiento, la incorporación de tareas vinculadas a funciones ejecutivas, al aprendizaje asociativo, a la flexibilidad cognitiva y a la cognición emocional podría revelar efectos sutiles que no se manifiestan en los paradigmas actuales, fortaleciendo así la caracterización funcional del modelo.

iii) Es recomendable que las investigaciones posteriores adopten estrategias de mayor transparencia y reproducibilidad. El reporte incompleto de parámetros en la literatura previa impidió construir priors informativos, lo que limitó la sensibilidad de los modelos empleados. La implementación de priors fundamentados en la literatura o en datos experimentales disponibles permitiría construir conocimiento de manera acumulativa, una de las ventajas distinti-

vas del enfoque bayesiano frente al frecuentista.

8 DISPONIBILIDAD DE DATOS

Con el fin de favorecer la transparencia, la verificación independiente y la reproducibilidad de esta investigación, todos los materiales que la sustentan se depositarán en un repositorio de acceso abierto alojado en la plataforma Zenodo, identificado de forma permanente con el DOI 10.5281/zenodo.21165367.

El repositorio comprenderá los datos en bruto y procesados de la totalidad de las pruebas conductuales, los videos de los ensayos conductuales y los scripts empleados en el preprocesamiento, el análisis estadístico y la generación de las figuras.

Los materiales se harán públicos a partir de la fecha de sustentación de la presente tesis; hasta entonces, el registro permanecerá reservado. Una vez liberado, el repositorio podrá consultarse en la dirección https://doi.org/10.5281/zenodo.21165367.

9 BIBLIOGRAFÍA

Abood, M. E., Pertwee, R. G., y Mackie, K. (2005). Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. *Cannabinoids*. Springer.

Abraham, W. C., Bliss, T. V. P., Collingridge, G. L., Lynch, G., y Schiavon, A. P. (2024). Long-term potentiation: 50 years on — past, present and future. *Philosophical Transactions of the Royal Society B, 379*(1906), 20230218. https://doi.org/10.1098/rstb.2023.0218

Aggleton, J. P., Albasser, M. M., Aggleton, D. J., Poirier, G. L., y Pearce, J. M. (2010). Lesions of the rat perirhinal cortex spare the acquisition of a complex configural visual discrimination yet impair object recognition. *Behavioral Neuroscience, 124*(1), 55–68. https://doi.org/10.1037/a0018320

Ahmed, M. A., y Kamel, E. O. (2020). Involvement of H2S, NO and BDNF-TrkB signalling pathway in the protective effects of simvastatin against pentylenetetrazole-induced kindling and cognitive impairments in mice. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 127*(2), 142–155. https://doi.org/10.1111/bcpt.13457

Alasmari, M., Bohlke, M., Kelley, C., Maher, T., y Pino-Figueroa, A. (2019). Inhibition of fatty acid amide hydrolase (FAAH) by macamides. *Molecular Neurobiology, 56*(3), 1770–1781. https://doi.org/10.1007/s12035-018-1115-8

Allen, C. A., y Seidenberg, M. (2008). Growing up with epilepsy: A two-year investigation of cognitive development in children with new onset epilepsy. *Epilepsia, 49*(11), 1847–1858. https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01735.x

Amani, M., Lauterborn, J. C., Le, A. A., Cox, B. M., Wang, W., Quintanilla, J., Cox,

C. D., Gall, C. M., y Lynch, G. (2021). Rapid aging in the perforant path projections to the rodent dentate gyrus. *The Journal of Neuroscience, 41*(10), 2301–2312. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2376-20.2021

Amlerova, J., Cavanna, A. E., Bradac, O., Javurkova, A., Raudenska, J., y Marusic, P. (2014). Emotion recognition and social cognition in temporal lobe epilepsy and the effect of epilepsy surgery. *Epilepsy & Behavior, 36*, 86–89. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2014.05.001

Anaya, T. G. (2015). *Entendiendo el uso y resultados del indicador años de vida ajustados por discapacidad.*

Antunes, M., y Biala, G. (2012). The novel object recognition memory: Neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cognitive Processing, 13*(2), 93–110. https://doi.org/10.1007/s10339-011-0430-z

Arimura, N., Maeda, C., Aoyama, K., Yamaguchi, N., Sugiura, A., Takahashi, Y., Maeda, R., Ando, T., Kamata, M., Matsui, H., y Tanaka, M. (2024). Compound 4f, a novel brain-penetrant reversible monoacylglycerol lipase inhibitor, ameliorates neuroinflammation, neuronal cell loss, and cognitive impairment in mice with kainic acid-induced neurodegeneration. *PLOS ONE, 19*(11), e0312090. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0312090

Asnakew, S., Legas, G., Belete, A., Admasu, F. T., Yitbarek, G. Y., Aytenew, T. M., Demise, B., Alemu, E. M., Alemu, M. A., Bayih, W. A., Feleke, D. G., Chanie, E. S., Birhane, B. M., y Kefale, D. (2022). Cognitive adverse effects of epilepsy and its predictors attending outpatient department of south gondar zone hospitals, amhara region, ethiopia 2020 *2021. PLOS ONE, 17*(12), e0278908. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278908

Barker, G. R. I., Bird, F., Alexander, V., y Warburton, E. C. (2007). Recognition memory for objects, place, and temporal order: A disconnection analysis of the role of the medial prefrontal cortex and perirhinal cortex. *The Journal of Neuroscience, 27*(11), 2948–2957. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5289-06.2007

Barker, G. R. I., y Warburton, E. C. (2011). When is the hippocampus involved in recognition memory? *The Journal of Neuroscience, 31*(29), 10721–10731. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6413-10.2011

Barron, H. C., Mars, R. B., Dupret, D., Lerch, J. P., y Sampaio-Baptista, C. (2021). Cross-species neuroscience: Closing the explanatory gap. *Philosophical Transactions of the Royal Society B, 376*(1815), 20190633. https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0633

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. https://doi.org/10.1037/h0077579

Bauer, R. H. (1972). Twenty-four hour proactive facilitation of avoidance and discrimination by pentylenetetrazol. *Psychopharmacologia, 24*(2), 275–295. https://doi.org/10.1007/BF00403647

Becker, A., Grecksch, G., Ruthrich, H. L., Pohle, W., Marx, B., y Matthies, H. (1992). Kindling and its consequences on learning in rats. *Behavioral and Neural Biology, 57*(1), 37-43.

Becker, A., Grecksch, G., Thiemann, W., y Höllt, V. (2000). Pentylenetetrazol-kindling modulates stimulated dopamine release in the nucleus accumbens of rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior, 66*(2), 425–428. https://doi.org/10.1016/s0091-3057(99)00264-6

Beghi, E., Giussani, G., Nichols, E., Abd-Allah, F., Abdela, J., Abdelalim, A., Abraha, H. N., Adib, M. G., Agrawal, S., Alahdab, F., Awasthi, A., Ayele, Y., Barboza, M. A., Belachew, A. B., Biadgo, B., Bijani, A., Bitew, H., Carvalho, F., Chaiah, Y., … Murray, C. J. L. (2019). Global, regional, and national burden of epilepsy, 1990–2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016. *The Lancet Neurology, 18*(4), 357–375. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30454-X

Ben-Shachar, M. S., Lüdecke, D., y Makowski, D. (2020). Effectsize: Estimation of effect size indices and standardized parameters. *Journal of Open Source Software, 5*(56), 2815. https://doi.org/10.21105/joss.02815

Biagini, G., D'Antuono, M., Benini, R., de Guzman, P., Longo, D., y Avoli, M. (2013). Perirhinal cortex and temporal lobe epilepsy. *Frontiers in Cellular Neuroscience, 7*, 130. https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00130

Bliss, T. V., y Lomo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology, 232*(2), 331–356. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1973.sp010273

Blümcke, I., Thom, M., Aronica, E., Armstrong, D. D., Bartolomei, F., Bernasconi, A., Bernasconi, N., Bien, C. G., Cendes, F., Coras, R., Cross, J. H., Jacques, T. S., Kahane, P., Mathern, G. W., Miyata, H., Moshé, S. L., Oz, B., Özkara, Ç., Perucca, E., … Spreafico, R. (2013). International consensus classification of hippocampal sclerosis in temporal lobe epilepsy: A task force report from the ILAE commission on diagnostic methods. *Epilepsia, 54*(7), 1315–1329. https://doi.org/10.1111/epi.12220

Bora, E., y Meletti, S. (2016). Social cognition in temporal lobe epilepsy: A systematic review and meta-analysis. *Epilepsy & Behavior, 60*, 50–57. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.04.024

Bortoletto, R., Balestrieri, M., Bhattacharyya, S., y Colizzi, M. (2022). Is it time to test the antiseizure potential of palmitoylethanolamide in human studies? A systematic review of preclinical evidence. *Brain Sciences, 12*(1), 101. https://doi.org/10.3390/brainsci12010101

Bostock, E. C. S., Kirkby, K. C., Garry, M. I., y Taylor, B. V. M. (2017). Systematic review of cognitive function in euthymic bipolar disorder and pre-surgical temporal lobe epilepsy. *Frontiers in Psychiatry, 8*, 133. https://doi.org/10.3389/fpsyt.2017.00133

Brandeis, R., Brandys, Y., y Yehuda, S. (1989). The use of the Morris water maze in the study of memory and learning. *International Journal of Neuroscience, 48*(1–2), 29–69. https://doi.org/10.3109/00207458909002151

Brown, M. W., y Aggleton, J. P. (2001). Recognition memory: What are the roles of the perirhinal cortex and hippocampus? *Nature Reviews Neuroscience, 2*(1), 51–61. https://doi.org/10.1038/35049064

Brown, R. E., Bligh, T. W. B., y Garden, J. F. (2021). The Hebb synapse before Hebb: Theories of synaptic function in learning and memory before Hebb (1949), with a discussion of the long-lost synaptic theory of William McDougall. *Frontiers in Behavioral Neuroscience, 15*, 732195. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.732195

Brunelli, M., Castellucci, V., y Kandel, E. R. (1976). Synaptic facilitation and behavioral sensitization in Aplysia: Possible role of serotonin and cyclic AMP. *Science, 194*(4270), 1178–1181. https://doi.org/10.1126/science.186870

Bunge, M. A., y Ardila, R. (2002). *Filosofía de la psicología*. Siglo XXI.

Burneo, J. G., Steven, D. A., Arango, M., Zapata, W., Vasquez, C. M., y Becerra, A. (2017). La cirugía de epilepsia y el establecimiento de programas quirúrgicos en el Perú: El proyecto de colaboración entre Perú y Canadá. *Revista de Neuro-Psiquiatría*, 80(3), 181-188.

Burneo, J. G., Tellez-Zenteno, J., y Wiebe, S. (2005). Understanding the burden of epilepsy in Latin America: a systematic review of its prevalence and incidence. *Epilepsy research*, 66(1-3), 63-74.

Bürkner, P. C. (2017). brms: An R package for Bayesian multilevel models using Stan. *Journal of Statistical Software, 80*, 1-28.

Cánovas, R., León, I., Serrano, P., Roldán, M. D., y Cimadevilla, J. M. (2011). Spatial navigation impairment in patients with refractory temporal lobe epilepsy: Evidence from a new virtual reality-based task. *Epilepsy & Behavior, 22*(2), 364–369. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2011.07.021

Castellucci, V., Carew, T., y Kandel, E. (1978). Cellular analysis of long-term habituation of the gill-withdrawal reflex of Aplysia californica. *Science, 202*(4374), 1306–1308. https://doi.org/10.1126/science.214854

Castellucci, V. F., y Kandel, E. R. (1974). A quantal analysis of the synaptic depression underlying habituation of the gill-withdrawal reflex in Aplysia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 71*(12), 5004–5008. https://doi.org/10.1073/pnas.71.12.5004

Castro García, F. A. (2021). *Evaluación del potencial efecto neuroprotector de macamidas sintéticas en la reducción de daño cerebral, conservación de la respuesta sensorio - motora y alivio del deterioro de memoria y aprendi-*

zaje espacial causados por isquemia cerebral focal en ratas, cusco – 2021. https://repositorio.uandina.edu.pe/handle/20.500.12557/5098

Chakrovorty, A., Bhattacharjee, B., Saxena, A., Samadder, A., y Nandi, S. (2023). Current naturopathy to combat Alzheimer's disease. *Current Neuropharmacology, 21*(4), 808–841. https://doi.org/10.2174/1570159X20666220927121022

Champely, S., Ekstrom, C., Dalgaard, P., Gill, J., Weibelzahl, S., Anandkumar, A., Ford, C., Volcic, R., y De Rosario, H. (2017). *Pwr: Basic functions for power analysis*

Cinalli, D. A., Cohen, S. J., Guthrie, K., y Stackman, R. W. (2020). Object recognition memory: Distinct yet complementary roles of the mouse CA1 and perirhinal cortex. *Frontiers in Molecular Neuroscience, 13*, 527543. https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.527543

Cohen, J. (1977). *Statistical power analysis for the behavioral sciences* (Rev. ed). Academic Press.

Cohen, S. J., y Stackman, R. W. (2015). Assessing rodent hippocampal involvement in the novel object recognition task. a review. *Behavioural Brain Research, 285*, 105–117. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.08.002

Colangeli, R., Pierucci, M., Benigno, A., … (2017). The FAAH inhibitor URB597 suppresses hippocampal maximal dentate afterdischarges and restores seizure-induced impairment of short and long-term synaptic plasticity. *Scientific Reports, 7*, 11152. https://doi.org/10.1038/s41598-017-11606-1

Collingridge, G. L., Kehl, S. J., y McLennan, H. (1983). Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *The Journal of Physiology, 334*, 33–46.

https://doi.org/10.1113/jphysiol.1983.sp014478

Consejo Nacional para la Integración de la Persona con Discapacidad (2021) El 75% de las personas que tienen epilepsia no acuden a los establecimientos de salud para recibir tratamiento médico adecuado. Nota informativa https://www.gob.pe/institucion/conadis/noticias/342373-el-75-de-las-personas-que-tienen-epilepsia-no-acuden-a-los-establecimientos-de-salud-para-recibir-tratamiento-medico-adecuado

Cowell, R. A., Bussey, T. J., y Saksida, L. M. (2006). Why does brain damage impair memory? A connectionist model of object recognition memory in perirhinal cortex. *The Journal of Neuroscience, 26*(47), 12186–12197. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2818-06.2006

Dazzi, L., Serra, M., Porceddu, M. L., Sanna, A., Chessa, M. F., y Biggio, G. (1997). Enhancement of basal and pentylenetetrazol (PTZ)-stimulated dopamine release in the brain of freely moving rats by PTZ-induced kindling. *Synapse, 26*(4), 351–358. https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199708)26:4<351::AID-SYN3>3.0.CO;2-5

de Castro Medeiros, D., Rosa Cota, V., Oliveira, A. C. P., Moreira, F. A., y Dutra Moraes, M. F. (2020). The endocannabinoid system activation as a neural network desynchronizing mediator for seizure suppression. *Frontiers in Behavioral Neuroscience, 14*, 603245. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.603245

Diana, M. A., y Marty, A. (2004). Endocannabinoid-mediated short-term synaptic plasticity: depolarization-induced suppression of inhibition (DSI) and depolarization-induced suppression of excitation (DSE). *British Journal of Pharmacology, 142*(1), 9–19. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705726

Diana, R. A., Reder, L. M., Arndt, J., y Park, H. (2006). Models of recognition: A review of arguments in favor of a dual-process account. *Psychonomic Bulletin & Review, 13*(1), 1–21. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2387212/

Dyomina, A. V., Smolensky, I. V., y Zaitsev, A. V. (2023). Refinement of the barnes and morris water maze protocols improves characterization of spatial cognitive deficits in the lithium-pilocarpine rat model of epilepsy. *Epilepsy & Behavior, 147*, 109391. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2023.109391

Eichenbaum, H., Yonelinas, A. P., y Ranganath, C. (2007). The medial temporal lobe and recognition memory. *Annual Review of Neuroscience, 30*, 123–152. https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.30.051606.094328

Engel, J., y Salamon, N. (2015). Temporal lobe epilepsy. En A. W. Toga (Ed.), *Brain mapping* (pp. 853–860). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397025-1.00101-9

Ennaceur, A., y Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural Brain Research, 31*(1), 47–59. https://doi.org/10.1016/0166-4328(88)90157-X

Faure, J.-B., Akimana, G., Carneiro, J. E. M., Cosquer, B., Ferrandon, A., Geiger, K., Koning, E., Penazzi, L., Cassel, J.-C., y Nehlig, A. (2013). A comprehensive behavioral evaluation in the lithium–pilocarpine model in rats: Effects of carisbamate administration during status epilepticus. *Epilepsia, 54*, 1203–1213. https://doi.org/10.1111/epi.12219

Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel Jr, J., Forsgren, L., French, J. A., Glynn, M., Hesdorffer, D. C., Lee, B., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Perucca, E., Scheffer, I. E., Tomson, T., Watanabe,

M., y Wiebe, S. (2014). ILAE official report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia, 55*(4), 475–482. https://doi.org/10.1111/epi.12550

Franco, V., y Perucca, E. (2019). Pharmacological and therapeutic properties of cannabidiol for epilepsy. *Drugs, 79*(13), 1435–1454. https://doi.org/10.1007/s40265-019-01171-4

Gaffan, D. (1974). Recognition impaired and association intact in the memory of monkeys after transection of the fornix. *Journal of Comparative and Physiological Psychology, 86*(6), 1100–1109. https://doi.org/10.1037/h0037649

Gall, C. M., Le, A. A., y Lynch, G. (2024). Contributions of site- and sex-specific LTPs to everyday memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B, 379*(1906), 20230223. https://doi.org/10.1098/rstb.2023.0223

Gáll, Z., Kelemen, K., Tolokán, A., Zolcseak, I., Sável, I., Bod, R., Ferencz, E., Vancea, S., Urkon, M., y Kolcsár, M. (2022). Anticonvulsant action and long-term effects of chronic cannabidiol treatment in the rat pentylenetetrazole-kindling model of epilepsy. *Biomedicines, 10*(8), 1811. https://doi.org/10.3390/biomedicines10081811

Gao, B., Wu, Y., Yang, Y.-J., … Yu, N. (2018). Sinomenine exerts anticonvulsant profile and neuroprotective activity in pentylenetetrazole kindled rats: Involvement of inhibition of NLRP1 inflammasome. *Journal of Neuroinflammation, 15*, 152. https://doi.org/10.1186/s12974-018-1199-0

Gelman, A., Lee, D., y Guo, J. (2015). Stan: A probabilistic programming language for Bayesian inference and optimization. *Journal of Educational and Behavioral Statistics, 40*(5), 530-543.

Genkova-Papazova, M. G., y Lazarova-Bakarova, M. B. (1995). Pentylenetetrazole

kindling impairs long-term memory in rats. *European Neuropsychopharmacology, 5*(1), 53-56.

Ghanaei, A., y Erfanian, A. (2025). *Intracranial EEG (iEEG) recording in a rat model of epilepsy* [Conjunto de datos] (V2). Mendeley Data. https://doi.org/10.17632/kn3k9f5vph.2

Glanzman, D. L. (2010). Common mechanisms of synaptic plasticity in vertebrates and invertebrates. *Current Biology, 20*(1), R31–R36. https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.10.023

Goddard, G. V. (1967). Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity. *Nature, 214*(5092), 1020–1021. https://doi.org/10.1038/2141020a0

Goddard, G. V., McIntyre, D. C., y Leech, C. K. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Experimental Neurology, 25*(3), 295–330. https://doi.org/10.1016/0014-4886(69)90128-9

Goffin, K., Van Paesschen, W., y Van Laere, K. (2011). In vivo activation of endocannabinoid system in temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Brain, 134*(4), 1033–1040. https://doi.org/10.1093/brain/awq385

Gomez-Marin, A. (2022). Causal circuit explanations of behavior: Are necessity and sufficiency necessary and sufficient? En L. Chen (Ed.), *Dynamics and the philosophy of neuroscience*. Springer.

Goodwin, N. L., Choong, J. J., Hwang, S., Pitts, K., Bloom, L., Islam, A., ... y Golden, S. A. (2024). Simple Behavioral Analysis (SimBA) as a platform for explainable machine learning in behavioral neuroscience. *Nature Neuroscience, 27*(7), 1411-1424.

Guarino, A., Pignata, P., Lovisari, F., Asth, L., Simonato, M., y Soukupova, M.

(2024). Cognitive comorbidities in the rat pilocarpine model of epilepsy. *Frontiers in Neurology, 15*, 1392977. https://doi.org/10.3389/fneur.2024.1392977

Gugnani, K. S., Vu, N., Rondón-Ortiz, A. N., Böhlke, M., Maher, T. J., y Pino-Figueroa, A. J. (2018). Neuroprotective activity of macamides on manganese-induced mitochondrial disruption in u-87 MG glioblastoma cells. *Toxicology and Applied Pharmacology, 340*, 67–76. https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.12.014

Hafting, T., Fyhn, M., Molden, S., Moser, M.-B., y Moser, E. I. (2005). Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature, 436*, 801–806. https://doi.org/10.1038/nature03721

Halina, M. (2023). Methods in comparative cognition. En E. N. Zalta y U. Nodelman (Eds.), *The Stanford encyclopedia of philosophy* (Fall 2023). Metaphysics Research Lab, Stanford University. https://plato.stanford.edu/archives/fall2023/entries/comparative-cognition/

Hanlon, S. M., Sim, D., Schneider, J. G., Yang, Z., y Thompson, S. M. (2023). The association between COVID-19 and febrile seizure. *Pediatric Emergency Care, 39*(5), 360–363. https://doi.org/10.1097/PEC.0000000000002935

Hasanein, P., y Teimuri Far, M. (2015). Effects of URB597 as an inhibitor of fatty acid amide hydrolase on WIN55, 212-2-induced learning and memory deficits in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior, 131*, 130–135. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.02.007

He, S., Qiu, X., Wang, J., Yang, L., Peng, A., Li, W., Dong, B., Tang, Y., Lai, W., y Chen, L. (2021). Behavioral and brain structural changes in kindled rats induced by Coriaria lactone/pentylenetetrazol. *Frontiers in Behavioral Neuroscience, 15*, 727872. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.727872

Hebb, D. O. (1949). *The organization of behavior: A neuropsychological theory*. Wiley.

Helmstaedter, C. (2013). Cognitive outcomes of different surgical approaches in temporal lobe epilepsy. *Epileptic Disorders, 15*(3), 221–239. https://doi.org/10.1684/epd.2013.0587

Helmstaedter, C., y Elger, C. E. (2009). Chronic temporal lobe epilepsy: a neurodevelopmental or progressively dementing disease? *Brain, 132*(10), 2822–2830. https://doi.org/10.1093/brain/awp182

Helmstaedter, C., y Kockelmann, E. (2006). Cognitive outcomes in patients with chronic temporal lobe epilepsy. *Epilepsia, 47*, 96–98. https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00702.x

Herlin, B. (2022). Hippocampal sclerosis linked to epilepsy: clinical consequences, histopathology and evolution with aging. *Geriatrie et Psychologie Neuropsychiatrie du Vieillissement, 20*(4), 515–521. https://doi.org/10.1684/pnv.2022.1072

Hermann, B., Seidenberg, M., Lee, E. J., Chan, F., y Rutecki, P. (2007). Cognitive phenotypes in temporal lobe epilepsy. *Journal of the International Neuropsychological Society, 13*(1), 12–20. https://doi.org/10.1017/S135561770707004X

Holmes, G. L. (2015). Cognitive impairment in epilepsy: the role of network abnormalities. *Epileptic Disorders, 17*(2), 101–116. https://doi.org/10.1684/epd.2015.0739

Hwang, G., Dabbs, K., Conant, L., Nair, V. A., Mathis, J., Almane, D. N., Nencka, A., Birn, R., Humphries, C., Raghavan, M., DeYoe, E. A., Struck, A. F., Maganti, R., Binder, J. R., Meyerand, E., Prabhakaran, V., y Hermann, B. (2019). Cognitive slowing and its underlying neurobiology in temporal lobe epilepsy. *Cortex, 117*, 41–

52. https://doi.org/10.1016/j.cortex.2019.02.022

Instituto Peruano de Seguridad Social, Briceño J. y Ignacio M. (1994) Prevalencia de epilepsia en la infancia (Lima y Callao: 1992). *Repositorio Institucional Essalud*. https://hdl.handle.net/20.500.12959/4901

Inostroza, M., Brotons-Mas, J. R., Laurent, F., Cid, E., y de la Prida, L. M. (2013). Specific impairment of "what-where-when" episodic-like memory in experimental models of temporal lobe epilepsy. *The Journal of Neuroscience, 33*(45), 17749–17762. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0957-13.2013

Irwin, S., y Benuazizi, A. (1966). Pentylenetetrazol enhances memory function. *Science, 152*(3718), 100–102. https://doi.org/10.1126/science.152.3718.100

Jefferys, J. G. R. (1999). Hippocampal sclerosis and temporal lobe epilepsy: cause or consequence? *Brain, 122*(6), 1007–1008. https://doi.org/10.1093/brain/122.6.1007

Jiang, Y., Han Chun-Lei, Liu Huan-Guang, Wang, X., Zhang, X., Meng Fan-Gang, y Zhang Jian-Guo. (2018). Abnormal hippocampal functional network and related memory impairment in pilocarpine-treated rats. *Epilepsia, 59*(9), 1785–1795. https://doi.org/10.1111/epi.14523

Jiji, P. J., Rai, R., Kumar, N. A., Blossom, V., Pai, M. M., Rai, A. R., Vadgaonkar, R., y Nayak, S. D. (2025). Experimental models of epilepsy: A comprehensive review of mechanisms, translational relevance, and future directions. *Veterinary World, 18*(11), 3041–3050. https://doi.org/10.14202/vetworld.2025.3041-3050

Kalinina, A., Maletta, T., Carr, J., Lehmann, H., y Fournier, N. M. (2022). Effect of repeated seizures on spatial exploration and immediate early gene expression in the hippocampus and dentate gyrus. *IBRO Neuroscience Reports, 12*, 73–83.

https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2021.12.008

Kandel, E. R. (2012). The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB. *Molecular Brain, 5*, 14. https://doi.org/10.1186/1756-6606-5-14

Kandel, E. R., Dudai, Y., y Mayford, M. R. (2014). The molecular and systems biology of memory. *Cell, 157*(1), 163–186. https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.001

Kandel, E. R., Koester, J., Mack, S., y Siegelbaum, S. (2021). *Principles of neural science* (Sixth edition). McGraw Hill.

Kanwal, H., Sangineto, M., Ciarnelli, M., Castaldo, P., Villani, R., Romano, A., Serviddio, G., y Cassano, T. (2024). Potential therapeutic targets to modulate the endocannabinoid system in Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences, 25*(7), 4050. https://doi.org/10.3390/ijms25074050

Karimani, F., Asgari Taei, A., Abolghasemi-Dehaghani, M.-R., Safari, M.-S., y Dargahi, L. (2024). Impairment of entorhinal cortex network activity in Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience, 16*, 1402573. https://doi.org/10.3389/fnagi.2024.1402573

Knopman, A. A., Wong, C. H., Stevenson, R. J., Homewood, J., Mohamed, A., Somerville, E., Eberl, S., Wen, L., Fulham, M., y Bleasel, A. F. (2014). The cognitive profile of occipital lobe epilepsy and the selective association of left temporal lobe hypometabolism with verbal memory impairment. *Epilepsia, 55*(1), 80–88. https://doi.org/10.1111/epi.12623

Krivanek, J. (1971). Facilitation of avoidance learning by pentylenetetrazol as a function of task difficulty, deprivation and shock level. *Psychopharmacologia, 20*(3), 213–229. https://doi.org/10.1007/BF00402098

Krivanek, J., y McGaugh, J. L. (1968). Effects of pentylenetetrazol on memory storage in mice. *Psychopharmacologia, 12*(4), 303–321. https://doi.org/10.1007/bf00401409

Kruschke, J. K. (2018). Rejecting or accepting parameter values in Bayesian estimation. *Advances in Methods and Practices in Psychological Science, 1*(2), 270–280. https://doi.org/10.1177/2515245918771304

Kruschke, J. K. (2021). Bayesian analysis reporting guidelines. *Nature Human Behaviour, 5*(10), 1282–1291. https://doi.org/10.1038/s41562-021-01177-7

Kruschke, J. K., y Liddell, T. M. (2018). The Bayesian New Statistics: Hypothesis testing, estimation, meta-analysis, and power analysis from a Bayesian perspective. *Psychonomic Bulletin & Review, 25*(1), 178–206. https://doi.org/10.3758/s13423-016-1221-4

Kwan Cheung, K. A., Peiris, H., Wallace, G., Holland, O. J., y Mitchell, M. D. (2019). The interplay between the endocannabinoid system, epilepsy and cannabinoids. *International Journal of Molecular Sciences, 20*(23), 6079. https://doi.org/10.3390/ijms20236079

Lago-Fernandez, A., Zarzo-Arias, S., Jagerovic, N., y Morales, P. (2021). Relevance of peroxisome proliferator activated receptors in multitarget paradigm associated with the endocannabinoid system. *International Journal of Molecular Sciences, 22*(3), 1001. https://doi.org/10.3390/ijms22031001

Lakens, D. (2013). Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for t-tests and ANOVAs. *Frontiers in Psychology, 4*. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2013.00863

Landi, S., Petrucco, L., Sicca, F., y Ratto, G. M. (2019). Transient cogni-

tive impairment in epilepsy. *Frontiers in Molecular Neuroscience, 11*, 458. https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00458

Langston, R. F., y Wood, E. R. (2010). Associative recognition and the hippocampus: Differential effects of hippocampal lesions on object-place, object-context and object-place-context memory. *Hippocampus, 20*(10), 1139–1153. https://doi.org/10.1002/hipo.20714

Lenck-Santini, P.-P., y Scott, R. C. (2015). Mechanisms responsible for cognitive impairment in epilepsy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 5*(10), a022772. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022772

Li, A., Inati, S., Zaghloul, K., Crone, N., Anderson, W., Johnson, E., Cajigas, I., Brusko, D., Jagid, J., Claudio, A., Kanner, A., Hopp, J., Chen, S., Haagensen, J., y Sarma, S. (2020). *Epilepsy-iEEG-Multicenter-Dataset* [Conjunto de datos]. OpenNeuro. https://doi.org/10.18112/openneuro.ds003029.v1.0.2

López-Meraz, M. L., Rocha, L., Miquel, M., Hernández, M. E., Cárdenas, R. T., Coria-Ávila, G. A., García, L. I., Estudillo, C. A. P., Abreu, G. E. A., y Manzo, J. (2009). Conceptos básicos de la epilepsia. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana, 9*(2), 31–37. https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=27874

Löscher, W. (2011). Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure - European Journal of Epilepsy, 20*(5), 359–368. https://doi.org/10.1016/j.seizure.2011.01.003

Löscher, W., y Stafstrom, C. E. (2023). Epilepsy and its neurobehavioral comorbidities: Insights gained from animal models. *Epilepsia, 64*(1), 54–91.

https://doi.org/10.1111/epi.17433

Lourenço, D. M., Ribeiro-Rodrigues, L., Sebastião, A. M., Diógenes, M. J., y Xapelli, S. (2020). Neural stem cells and cannabinoids in the spotlight as potential therapy for epilepsy. *International Journal of Molecular Sciences, 21*(19), 7309. https://doi.org/10.3390/ijms21197309

Lu, E., Pyatka, N., Burant, C. J., y Sajatovic, M. (2021). Systematic literature review of psychiatric comorbidities in adults with epilepsy. *Journal of Clinical Neurology, 17*(2), 176–186. https://doi.org/10.3988/jcn.2021.17.2.176

Lu, H.-C., y Mackie, K. (2016). An introduction to the endogenous cannabinoid system. *Biological Psychiatry, 79*(7), 516–525. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.07.028

Lu, Y., Lin, M., Ou, S., Sun, L., Qian, K., Kuang, H., y Wu, Y. (2024). Astragalus polysaccharides ameliorate epileptogenesis, cognitive impairment, and neuroinflammation in a pentylenetetrazole-induced kindling mouse model. *Frontiers in Pharmacology, 15*, 1336122. https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1336122

Ludányi, A., Eross, L., Czirják, S., Vajda, J., Halász, P., Watanabe, M., Palkovits, M., Maglóczky, Z., Freund, T. F., y Katona, I. (2008). Downregulation of the CB1 cannabinoid receptor and related molecular elements of the endocannabinoid system in epileptic human hippocampus. *The Journal of Neuroscience, 28*(12), 2976–2990. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4465-07.2008

Lueptow, L. M. (2017). Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. *Journal of Visualized Experiments*, (126), e55718. https://doi.org/10.3791/55718

Maccarrone, M., Bab, I., Bíró, T., Cabral, G. A., Dey, S. K., Di Marzo, V., Konje,

J. C., Kunos, G., Mechoulam, R., Pacher, P., Sharkey, K. A., y Zimmer, A. (2015). Endocannabinoid signaling at the periphery: 50 years after THC. *Trends in Pharmacological Sciences, 36*(5), 277–296. https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.02.008

Maldonado, A., Ramos, W., Pérez, J., Huamán, L. A., y Gutiérrez, E. L. (2010). Estado epiléptico convulsivo: características clínico-epidemiológicas y factores de riesgo en perú. *Neurología, 25*(8), 478–484. https://doi.org/10.1016/j.nrl.2010.07.010

Malík, M., y Tlustoš, P. (2023). Nootropic herbs, shrubs, and trees as potential cognitive enhancers. *Plants, 12*(6), 1364. https://doi.org/10.3390/plants12061364

Marin-Castañeda, L. A., Pacheco Aispuro, G., Gonzalez-Garibay, G., Martínez Zamora, C. A., Romo-Parra, H., Rubio-Osornio, M., y Rubio, C. (2025). Interplay of epilepsy and long-term potentiation: Implications for memory. *Frontiers in Neuroscience, 18*, 1451740. https://doi.org/10.3389/fnins.2024.1451740

Mason, C. R., y Cooper., R. M. (1972). A permanent change in convulsive threshold in normal and brain-damaged rats with repeated small doses of pentylenetetrazol*. *Epilepsia, 13*(5), 663–674. https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1972.tb04401.x

Mathis, A., Mamidanna, P., Cury, K. M., Abe, T., Murthy, V. N., Mathis, M. W., y Bethge, M. (2018). DeepLabCut: markerless pose estimation of user-defined body parts with deep learning. *Nature Neuroscience, 21*(9), 1281-1289.

McIntyre, D. C., y Gilby, K. L. (2008). Mapping seizure pathways in the temporal lobe. *Epilepsia, 49*(Supl. 3), 23–30. https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01507.x

McNaughton, B. L., Douglas, R. M., y Goddard, G. V. (1978). Synaptic enhancement in fascia dentata: Cooperativity among coactive afferents. *Brain Research,*

157(2), 277–293. https://doi.org/10.1016/0006-8993(78)90030-6

Medina-Saldivar, C., Pardo, G. V. E., y Pacheco-Otalora, L. F. (2024). Effect of MCH1, a fatty-acid amide hydrolase inhibitor, on the depressive-like behavior and gene expression of endocannabinoid and dopaminergic-signaling system in the mouse nucleus accumbens. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 57*, e12857. https://doi.org/10.1590/1414-431X2024e12857

Milner, B., Corkin, S., y Teuber, H. L. (1968). Further analysis of the hippocampal amnesic syndrome: 14-year follow-up study of HM. *Neuropsychologia, 6*(3), 215-234.

Ministerio de Salud (2024). Aproximadamente medio millón de personas viven con epilepsia en nuestro país. Nota de prensa. https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/898850-aproximadamente-medio-millon-de-personas-viven-con-epilepsia-en-nuestro-pais

Mishkin, M. (1978). Memory in monkeys severely impaired by combined but not by separate removal of amygdala and hippocampus. *Nature, 273*(5660), 297–298. https://doi.org/10.1038/273297a0

Mishra, A., y Goel, R. K. (2012). Age dependent learning and memory deficit in pentylenetetrazol kindled mice. *European Journal of Pharmacology, 674*(2), 315–320. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.11.010

Mishra, A., y Goel, R. K. (2013). Psychoneurochemical investigations to reveal neurobiology of memory deficit in epilepsy. *Neurochemical Research, 38*(12), 2503–2515. https://doi.org/10.1007/s11064-013-1163-4

Moldrich, G., y Wenger, T. (2000). Localization of the CB1 cannabinoid receptor in the rat brain: An immunohistochemical study. *Peptides, 21*(11), 1735–1742.

https://doi.org/10.1016/s0196-9781(00)00324-7

Monory, K., Massa, F., Egertová, M., Eder, M., Blaudzun, H., Westenbroek, R., Kelsch, W., Jacob, W., Marsch, R., Ekker, M., Long, J., Rubenstein, J. L., Goebbels, S., Nave, K. A., During, M., Klugmann, M., Wölfel, B., Dodt, H. U., Zieglgänsberger, W., Wotjak, C. T., … Lutz, B. (2006). The endocannabinoid system controls key epileptogenic circuits in the hippocampus. *Neuron, 51*(4), 455–466. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.07.006

Montebello, G., y Di Giovanni, G. (2025). Dysregulation of the cannabinoid system in childhood epilepsy: From mechanisms to therapy. *International Journal of Molecular Sciences, 26*(13), 6234. https://doi.org/10.3390/ijms26136234

Monteiro, Á. B., Alves, A. F., Ribeiro Portela, A. C., Oliveira Pires, H. F., Pessoa de Melo, M., Medeiros Vilar Barbosa, N. M., y Bezerra Felipe, C. F. (2024). Pentylenetetrazole: A review. *Neurochemistry International, 180*, 105841. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2024.105841

Morris, R. G. M. (1981). Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation, 12*(2), 239–260. https://doi.org/10.1016/0023-9690(81)90020-5

Mortazavi, F., Ericson, M., Story, D., Hulce, V. D., y Dunbar, G. L. (2005). Spatial learning deficits and emotional impairments in pentylenetetrazole-kindled rats. *Epilepsy & Behavior, 7*(4), 629-638.

Muhammad, I., Zhao, J., Dunbar, D. C., y Khan, I. A. (2002). Constituents of Lepidium meyenii ‘maca’. *Phytochemistry*, 59(1), 105-110. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00395-8

Mula, M., Kanner, A. M., Jetté, N., y Sander, J. W. (2021). Psychiatric co-

morbidities in people with epilepsy. *Neurology: Clinical Practice, 11*(2). https://doi.org/10.1212/CPJ.0000000000000874

Murphy, G. y Glanzman D. (1997). Mediation of classical conditioning in Aplysia californica by long-term potentiation of sensorimotor synapses. *Science, 278*(5337), 467–471. https://doi.org/10.1126/science.278.5337.46

Murphy, N., Cowley, T. R., Blau, C. W., Dempsey, C. N., Noonan, J., Gowran, A., Tanveer, R., Olango, W. M., Finn, D. P., Campbell, V. A., y Lynch, M. A. (2012). The fatty acid amide hydrolase inhibitor URB597 exerts anti-inflammatory effects in hippocampus of aged rats and restores an age-related deficit in long-term potentiation. *Journal of Neuroinflammation, 9*, 79. https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-79

Narayanan, J., Duncan, R., Greene, J., Leach, J.-P., Razvi, S., McLean, J., y Evans, J. J. (2012). Accelerated long-term forgetting in temporal lobe epilepsy: Verbal, nonverbal and autobiographical memory. *Epilepsy & Behavior, 25*(4), 622–630. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2012.06.038

Nariai, H., Duberstein, S., y Shinnar, S. (2018). Treatment of epileptic encephalopathies: current state of the art. *Journal of Child Neurology, 33*(1), 41–54. https://doi.org/10.1177/0883073817690290

Naseer, M. I., Shupeng, L., y Kim, M. O. (2009). Maternal epileptic seizure induced by pentylenetetrazol: Apoptotic neurodegeneration and decreased GABAB1 receptor expression in prenatal rat brain. *Molecular Brain, 2*, 20. https://doi.org/10.1186/1756-6606-2-20

Nelson, R. J., Bumgarner, J. R., Walker, W. H., 2nd, y DeVries, A. C. (2021). Time-of-day as a critical biological variable. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 127*, 740–746. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.05.017

Nestler, E. J., Hyman, S. E., Holtzman, D. M., y Malenka, R. C. (2015). *Molecular neuropharmacology: a foundation for clinical neuroscience* (Third edition). The McGraw-Hill Companies, Incorporated.

Nicoara, C., Fezza, F., y Maccarrone, M. (2025). FAAH modulators from natural sources: A collection of new potential drugs. *Cells, 14*(7), 551. https://doi.org/10.3390/cells14070551

O'Keefe, J., y Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map: Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research, 34*(1), 171–175. https://doi.org/10.1016/0006-8993(71)90358-1

O'Keefe, J., y Nadel, L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford University Press.

Olarte-Sánchez, C. M., Amin, E., Warburton, E. C., y Aggleton, J. P. (2015). Perirhinal cortex lesions impair tests of object recognition memory but spare novelty detection. *The European Journal of Neuroscience, 42*(12), 3117–3127. https://doi.org/10.1111/ejn.13106

Operto, F. F., Pastorino, G. M. G., Viggiano, A., Dell'Isola, G. B., Dini, G., Verrotti, A., y Coppola, G. (2023). Epilepsy and cognitive impairment in childhood and adolescence: a mini-review. *Current Neuropharmacology, 21*(8), 1646–1665. https://doi.org/10.2174/1570159X20666220706102708

Othman, M. Z., Hassan, Z., y Che Has, A. T. (2022). Morris water maze: A versatile and pertinent tool for assessing spatial learning and memory. *Experimental Animals, 71*(3), 264–280. https://doi.org/10.1538/expanim.21-0120

Özkara, Ç., y Aronica, E. (2012). Chapter 37 - hippocampal sclerosis. En H. Stefan y W. H. Theodore (Eds.), *Handbook of clinical neurology* (Vol. 108, pp. 621–639).

Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52899-5.00019-8

Pacheco-Barrios, K., Navarro-Flores, A., Cardenas-Rojas, A., Uygur-Kucukseymen, E., Alva-Diaz, C., Fregni, F., y Burneo, J. G. (2022). Burden of epilepsy in latin america and the caribbean: a trend analysis of the global burden of disease study 1990 – 2019. *The Lancet Regional Health – Americas, 8*. https://doi.org/10.1016/j.lana.2021.100140

Panksepp, J. (2011). Cross-species affective neuroscience decoding of the primal affective experiences of humans and related animals. *PLoS ONE, 6*(9), e21236. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021236

Peñasco, S., Rico-Barrio, I., Puente, N., Gómez-Urquijo, S. M., Fontaine, C. J., Egaña-Huguet, J., Achicallende, S., Bonilla-Del Río, I., Goicolea, M. A., y Grandes, P. (2019). Endocannabinoid long-term depression revealed at medial perforant path excitatory synapses in the dentate gyrus. *Neuropharmacology, 153*, 32–40. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.04.020

Penfield, W., y Milner, B. (1958). Memory deficit produced by bilateral lesions in the hippocampal zone. *AMA Archives of Neurology & Psychiatry, 79*(5), 475-497.

Perveen, N., Alqahtani, F., Ashraf, W., Rasool, M. F., Anjum, S. M. M., Kaukab, I., Ahmad, T., Alqarni, S. A., y Imran, I. (2024). Perampanel increases seizure threshold in pentylenetetrazole-kindled mice and improves behavioral dysfunctions by modifying mRNA expression levels of BDNF/TrkB and inflammatory markers. *Saudi Pharmaceutical Journal, 32*(2), 101930. https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.101930

Pinel, J. P. J., y Barnes, S. J. (2022). *Biopsychology* (Eleventh edition, global edition). Pearson.

Pollo, M. L. M., Gimenes, C., y Covolan, L. (2022). Male rats are more vulnerable to pentylenetetrazole-kindling model but females have more spatial memory-related deficits. *Epilepsy & Behavior, 129*, 108632. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2022.108632

Quillfeldt, J. A. (2016). Behavioral methods to study learning and memory in rats. En M. Andersen y S. Tufik (Eds.), *Rodent model as tools in ethical biomedical research*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-11578-8_17

R Core Team. (2024). *R: The R project for statistical computing*. https://www.r-project.org/

Racine, R. J. (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, 32*(3), 281–294. https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0

Reddy, D. S., Vadassery, A., Ramakrishnan, S., Singh, T., Clossen, B., y Wu, X. (2024). Kindling models of epileptogenesis for developing disease-modifying drugs for epilepsy. *Current Protocols, 4*(3), e70020. https://doi.org/10.1002/cpz1.70020

Redish, A. D., y Touretzky, D. S. (1998). The role of the hippocampus in solving the Morris water maze. *Neural Computation, 10*(1), 73–111. https://doi.org/10.1162/089976698300017908

Ren, S.-Y., Wang, Z.-Z., Zhang, Y., y Chen, N.-H. (2020). Potential application of endocannabinoid system agents in neuropsychiatric and neurodegenerative diseases — focusing on FAAH/MAGL inhibitors. *Acta Pharmacologica Sinica, 41*(10), 1263–1271. https://doi.org/10.1038/s41401-020-0385-7

Rosenberg, E. C., Patra, P. H., y Whalley, B. J. (2017). Therapeutic effects of cannabinoids in animal models of seizures, epilepsy, epileptogenesis,

and epilepsy-related neuroprotection. *Epilepsy & Behavior, 70*, 319–327. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.11.006

Saber, M., Giordano, K. R., Hur, Y., Ortiz, J. B., Morrison, H., Godbout, J. P., ... y Rowe, R. K. (2020). Acute peripheral inflammation and post-traumatic sleep differ between sexes after experimental diffuse brain injury. *European Journal of Neuroscience, 52*(1), 2791-2814.

Sahin, H., Yucel, O., Emik, S., y Senturk, G. E. (2022). Protective effects of intranasally administrated oxytocin-loaded nanoparticles on pentylenetetrazole-kindling epilepsy in terms of seizure severity, memory, neurogenesis, and neuronal damage. *ACS Chemical Neuroscience, 13*(13), 1923–1937. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.2c00124

Scammell, T. E., Arrigoni, E., y Lipton, J. O. (2017). Neural circuitry of wakefulness and sleep. *Neuron, 93*(4), 747–765. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.01.014

Santangelo, G., Trojano, L., Vitale, C., Improta, I., Alineri, I., Meo, R., y Bilo, L. (2017). Cognitive dysfunctions in occipital lobe epilepsy compared to temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuropsychology*. https://doi.org/10.1111/jnp.12085

Scoville, W. B., y Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry, 20*(1), 11–21. https://doi.org/10.1136/jnnp.20.1.11

Segovia-Sánchez, F. A., Bautista-Rafael, Á., Donayre-Rodríguez, E. J., Rozas-Acurio, Z. N., y Guillén-Pinto, D. (2022). Características clínicas del estado epiléptico en niños de un hospital de tercer nivel de Lima. *Revista de Neuro-Psiquiatria, 85*(4), 271–281. https://doi.org/10.20453/rnp.v85i4.4367

Seidenberg, M., Pulsipher, D. T., y Hermann, B. (2009). Association of epilepsy and comorbid conditions. *Future Neurology, 4*(5), 663–668. https://doi.org/10.2217/fnl.09.32

Semah, F., Picot, M.-C., Adam, C., Broglin, D., Arzimanoglou, A., Bazin, B., Cavalcanti, D., y Baulac, M. (1998). Is the underlying cause of epilepsy a major prognostic factor for recurrence? *Neurology, 51*(5), 1256–1262. https://doi.org/10.1212/WNL.51.5.1256

Sheng, J., Liu, S., Qin, H., Li, B., y Zhang, X. (2018). Drug-resistant epilepsy and surgery. *Current Neuropharmacology, 16*(1), 17–28. https://doi.org/10.2174/1570159X15666170504123316

Shimada, T., y Yamagata, K. (2018). Pentylenetetrazole-induced kindling mouse model. *Journal of Visualized Experiments : JoVE, 136*, 56573. https://doi.org/10.3791/56573

Singh, T., Mishra, A., y Goel, R. K. (2021). PTZ kindling model for epileptogenesis, refractory epilepsy, and associated comorbidities: relevance and reliability. *Metabolic Brain Disease, 36*(7), 1573–1590. https://doi.org/10.1007/s11011-021-00823-3

Sone, D. (2021). Making the invisible visible: Advanced neuroimaging techniques in focal epilepsy. *Frontiers in Neuroscience, 15*. https://doi.org/10.3389/fnins.2021.699176

Sorg, A.-L., von Kries, R., y Borggraefe, I. (2022). Cognitive disorders in childhood epilepsy: a comparative longitudinal study using administrative healthcare data. *Journal of Neurology, 269*(7), 3789–3799. https://doi.org/10.1007/s00415-022-11008-y

Squire, L. R., y Dede, A. J. (2015). Conscious and unconscious memory systems. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 7*(3), a021667. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021667

Stafstrom, C. E., y Kossoff, E. H. (2016). Epileptic encephalopathy in infants and children. *Epilepsy Currents, 16*(4), 273–279. https://doi.org/10.5698/1535-7511-16.4.273

Sturman, O., von Ziegler, L., Schläppi, C., Akyol, F., Privitera, M., Slominski, D., ... y Bohacek, J. (2020). Deep learning-based behavioral analysis reaches human accuracy and is capable of outperforming commercial solutions. *Neuropsychopharmacology, 45*(11), 1942-1952.

Szyndler, J., Piechal, A., Blecharz-Klin, K., Skórzewska, A., Maciejak, P., Walkowiak, J., Turzyńska, D., Bidziński, A., Płaźnik, A., y Widy-Tyszkiewicz, E. (2006). Effect of kindled seizures on rat behavior in water Morris maze test and amino acid concentrations in brain structures. *Pharmacological Reports, 58*(1), 75–82.

Tamagnini, F. (2011). *Role of nitric oxide and endocannabinoids in synaptic plasticity in the perirhinal cortex and in visual recognition memory* [Tesis doctoral, Università di Bologna]. https://doi.org/10.6092/unibo/amsdottorato/3926

Tassi, L., Meroni, A., Deleo, F., Villani, F., Mai, R., Russo, G. L., Colombo, N., Avanzini, G., Falcone, C., Bramerio, M., Citterio, A., Garbelli, R., y Spreafico, R. (2009). Temporal lobe epilepsy: neuropathological and clinical correlations in 243 surgically treated patients. *Epileptic Disorders, 11*(4), 281–292. https://doi.org/10.1684/epd.2009.0279

Touchon, J. C. (2021). *Applied statistics with R: a practical guide for the life sciences*. Oxford University Press.

Tolman, E. C. (1948). Cognitive maps in rats and men. *Psychological Review, 55*(4), 189–208. https://doi.org/10.1037/h0061626

Treit, S., Little, G., Steve, T., Nowacki, T., Schmitt, L., Wheatley, B. M., Sankar, T., y Beaulieu, C. (2019). Regional hippocampal diffusion abnormalities associated with subfield-specific pathology in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia Open, 4*(4), 544–554. https://doi.org/10.1002/epi4.12357

Tsai, M.-H., Pardoe, H. R., Perchyonok, Y., Fitt, G. J., Scheffer, I. E., Jackson, G. D., y Berkovic, S. F. (2013). Etiology of hippocampal sclerosis. *Neurology, 81*(2), 144–149. https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31829a33ac

Łukawski, K., y Czuczwar, S. J. (2023). Oxidative stress and neurodegeneration in animal models of seizures and epilepsy. *Antioxidants, 12*(5), 1049. https://doi.org/10.3390/antiox12051049

van der Staay, F. J., Arndt, S. S., y Nordquist, R. E. (2009). Evaluation of animal models of neurobehavioral disorders. *Behavioral and Brain Functions, 5*, 11. https://doi.org/10.1186/1744-9081-5-11

Van Goethem, N., Blokland, A., y Prickaerts, J. (2018). Theories and concepts. En *Handbook of behavioral neuroscience* (Vol. 27, pp. 23–38). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812012-5.00002-1

Vaughan, D. N., y Jackson, G. D. (2014). The piriform cortex and human focal epilepsy. *Frontiers in Neurology, 5*, 259. https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00259

Vismer, M. S., Forcelli, P. A., Skopin, M. D., Gale, K., y Koubeissi, M. Z. (2015). The piriform, perirhinal, and entorhinal cortex in seizure generation. *Frontiers in Neural Circuits, 9*, 27. https://doi.org/10.3389/fncir.2015.00027

Walker, M. C. (2015). Hippocampal sclerosis: Causes and prevention. *Seminars in*

Neurology, 35(3), 193–200. https://doi.org/10.1055/s-0035-1552618

Wang, W., Jia, Y., Pham, D. T., Palmer, L. C., Jung, K.-M., Cox, C. D., Rumbaugh, G., Piomelli, D., Gall, C. M., y Lynch, G. (2018). Atypical endocannabinoid signaling initiates a new form of memory-related plasticity at a cortical input to hippocampus. *Cerebral Cortex, 28*(7), 2253–2266. https://doi.org/10.1093/cercor/bhx126

Wang, W., Trieu, B. H., Palmer, L. C., Jia, Y., Pham, D. T., Jung, K.-M., Karsten, C. A., Merrill, C. B., Mackie, K., Gall, C. M., y Lynch, G. (2016). A primary cortical input to hippocampus expresses a pathway-specific and endocannabinoid-dependent form of long-term potentiation. *eNeuro, 3*(4), ENEURO.0160-16.2016. https://doi.org/10.1523/ENEURO.0160-16.2016

Wiebe, S. (2000). Epidemiology of temporal lobe epilepsy. *The Canadian Journal of Neurological Sciences, 27*(1), S6–S10. https://doi.org/10.1017/S0317167100000561

Wang, Y., Wei, P., Yan, F., Luo, Y., y Zhao, G. (2022). Animal models of epilepsy: A phenotype-oriented review. *Aging and Disease, 13*(1), 215–231. https://doi.org/10.14336/AD.2021.0723

Wieser, H. G. (2004). Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Epilepsia, 45*(6), 695–714. https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2004.09004.x

Wilkinson, G. N., y Rogers, C. E. (1973). Symbolic description of factorial models for analysis of variance. *Journal of the Royal Statistical Society Series C: Applied Statistics, 22*(3), 392-399.

Wise, L. E., Long, K. A., Abdullah, R. A., Long, J. Z., Cravatt, B. F., y Lichtman, A. H. (2012). Dual fatty acid amide hydrolase and monoacylglycerol lipase blockade produces THC-like Morris water maze deficits in mice. *ACS Chemical Neuroscien-*

ce, 3(5), 369–378.

World Health Organization. (2019). *Epilepsy: a public health imperative. https*://iris.who.int/handle/10665/325293

Xu, P., Chen, X., Zhou, J., Zhou, W., y Wang, L. (2023). Febrile seizure in children with COVID-19 during the omicron wave. *Frontiers in Pediatrics, 11*, 1197156. https://doi.org/10.3389/fped.2023.1197156

Wu, H., Kelley, C. J., Pino-Figueroa, A., Vu, H. D., y Maher, T. J. (2013). Macamides and their synthetic analogs: Evaluation of in vitro FAAH inhibition. *Bioorganic & Medicinal Chemistry, 21*(17), 5188–5197. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.06.034

Ybañez-Julca, R., Quispe-Díaz, I., Asunción-Alvarez, D., Sánchez-Muñoz, K., Vargas-Goñas, A., Morote-Guzman, J., Yaro-Marcelo, R., Venegas-Casanova, E., Jara-Aguilar, R., Calderon, P., y Benites, J. (2021). Antidepressant-like behavioral and spatial memory effects in Peruvian red maca (Lepidium meyenii)-treated rats. *Pharmacognosy Journal, 13*(1), 81–88. https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.12

Yonelinas, A. P. (2002). The nature of recollection and familiarity: A review of 30 years of research. *Journal of Memory and Language, 46*(3), 441–517. https://doi.org/10.1006/jmla.2002.2864

Yu, Z., Guindani, M., Grieco, S. F., Chen, L., Holmes, T. C., y Xu, X. (2022). Beyond t test and ANOVA: applications of mixed-effects models for more rigorous statistical analysis in neuroscience research. *Neuron, 110*(1), 21-35.

Yu, Z., Li, D., Zhai, S., Xu, H., Liu, H., Ao, M., Zhao, C., Jin, W., y Yu, L. (2021). Neuroprotective effects of macamide from maca (Lepidium meyenii Walp.) on corticosterone-induced hippocampal impairments through its anti-inflammatory,

neurotrophic, and synaptic protection properties. *Food & Function, 12*(19), 9211–9228. https://doi.org/10.1039/d1fo01720a

Zare, M., Rezaei, M., Nazari, M., Kosarmadar, N., Faraz, M., Barkley, V., Shojaei, A., Raoufy, M. R., y Mirnajafi-Zadeh Javad. (2024). Effect of the closed-loop hippocampal low-frequency stimulation on seizure severity, learning, and memory in pilocarpine epilepsy rat mode. *CNS Neuroscience & Therapeutics, 30*(3). https://europepmc.org/articles/PMC10912795

Zhao, F., Kang, H., You, L., Rastogi, P., Venkatesh, D., y Chandra, M. (2014). Neuropsychological deficits in temporal lobe epilepsy: A comprehensive review. *Annals of Indian Academy of Neurology, 17*(4), 374–382. https://doi.org/10.4103/0972-2327.144003

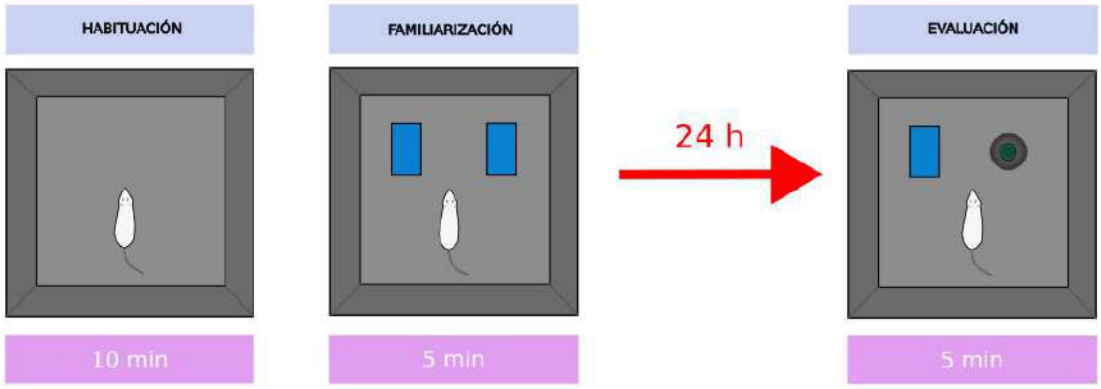
Zhao, H., Liu, Y., Cai, N., Liao, X., Tang, L., y Wang, Y. (2024). Endocannabinoid hydrolase inhibitors: Potential novel anxiolytic drugs. *Drug Design, Development and Therapy, 18*, 2143–2167. https://doi.org/10.2147/DDDT.S462785

Zhu, X., Dong, J., Han, B., Huang, R., Zhang, A., Xia, Z., Chang, H., Chao, J., y Yao, H. (2017a). Neuronal nitric oxide synthase contributes to PTZ kindling epilepsy-induced hippocampal endoplasmic reticulum stress and oxidative damage. *Frontiers in Cellular Neuroscience, 11*, 377. https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00377

Zhu, X., Dong, J., Han, B., Huang, R., Zhang, A., Xia, Z., Chang, H., Chao, J., y Yao, H. (2017b). Neuronal nitric oxide synthase contributes to pentylenetetrazole kindling-induced cognitive impairment and depressive-like behavior. *Frontiers in Behavioral Neuroscience, 11*, 203. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00203

APENDICE A
PROTOCOLO DE LA PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DEL OBJETO NOVEDOSO

Versión: 01	**PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DEL OBJETO NOVEDOSO**	**Fecha de redacción:** 05-12-2024
Redactado por: Rodrigo Cáceres	**Revisado por:** Dr. Luis Pacheco	**Aprobado por:** Dr. Luis Pacheco



REFERENCIA

Gáll, Z., Kelemen, K., Tolokán, A., Zolcseak, I., Sável, I., Bod, R., Ferencz, E., Vancea, S., Urkon, M., y Kolcsár, M. (2022). Anticonvulsant action and long-term effects of chronic cannabidiol treatment in the rat pentylenetetrazole-kindling model of epilepsy. Biomedicines, 10(8), 1811. https://doi.org/10.3390/biomedicines10081811

1. FUNDAMENTOS

La prueba de reconocimiento de objetos novedosos (NOR) evalúa la memoria de reconocimiento basada en la familiaridad del ítem, aprovechando la tendencia innata de los roedores a explorar más un objeto novedoso que uno ya conocido. Tras una fase de familiarización con dos objetos idénticos, se sustituye uno por un objeto novedoso; una mayor exploración del objeto novedoso indica que el animal reconoce al familiar.

2. MATERIALES

- Ratas (variedad Sprague-Dawley).
- Arena de campo abierto: caja de acrílico opaco de 55 cm × 55 cm.
- Dos objetos idénticos y un objeto novedoso (de material no poroso, fáciles de limpiar y de tamaño y peso que la rata no pueda desplazar).
- Cámara cenital (p. ej., webcam) y computadora para la grabación de los ensayos.
- Cronómetro (o dos, uno por objeto).

Versión: 01	**PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DEL OBJETO NOVEDOSO**	**Fecha de redacción:** 05-12-2024
Redactado por: Rodrigo Cáceres	**Revisado por:** Dr. Luis Pacheco	**Aprobado por:** Dr. Luis Pacheco

- Cortinas u otro medio para aislar visualmente el aparato del resto de la sala y del experimentador.
- Alcohol al 96 %, papel toalla y guantes.
- Termómetro; sala acondicionada a una temperatura de 20 a 23 °C.

3. CONSIDERACIONES PREVIAS

- Duración total: 2 días, con 3 procedimientos por sujeto: habituación y familiarización el primer día, y evaluación el segundo.
- La evaluación de cada sujeto se realiza exactamente 24 horas después del inicio de su fase de familiarización.
- Mantener constantes la posición de los objetos y del experimentador entre sujetos y entre fases.
- Limpiar la arena y los objetos con alcohol al 96 % entre cada sujeto y entre fases, para eliminar olores y rastros; esperar la evaporación antes del siguiente ensayo.
- Grabar en video las fases de familiarización y de evaluación de cada sujeto.

4. PROCEDIMIENTO POR CADA ANIMAL

Día 1 - Habituación y familiarización

1. Sacar la rata de su caja, colocarla en una caja individual y trasladarla de la sala de estabulación a la sala de evaluación.
2. Habituación: colocar la rata en la arena vacía y permitir que la explore libremente durante 10 minutos.
3. Retirar la rata, devolverla a su caja individual y limpiar la arena con alcohol al 96 %.
4. Tras la evaporación del alcohol, colocar dos objetos idénticos en la arena, en una posición constante para todos los sujetos.
5. Familiarización: reintroducir la rata en la arena, activar la grabación y dejar que explore libremente la arena y los objetos durante 5 minutos.
6. Retirar la rata, devolverla a su caja individual y trasladarla a la sala de estabulación. Limpiar la arena y los objetos con alcohol al 96 % antes del siguiente sujeto.

Versión: 01	PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DEL OBJETO NOVEDOSO	Fecha de redacción: 05-12-2024
Redactado por: Rodrigo Cáceres	**Revisado por:** Dr. Luis Pacheco	**Aprobado por:** Dr. Luis Pacheco

Día 2 - Evaluación (24 horas después de la familiarización)

7. Trasladar la rata a la sala de evaluación, previamente acondicionada.
8. Disponer en la arena un objeto idéntico a los de la familiarización (familiar) y, en el lugar del otro, un objeto novedoso, manteniendo constantes las posiciones.
9. Colocar la rata en la arena, activar la grabación y dejar que explore libremente durante 5 minutos.
10. Retirar la rata, devolverla a su caja y trasladarla a la sala de estabulación. Limpiar la arena y los objetos con alcohol al 96 % antes del siguiente sujeto.

5. PARÁMETROS A REGISTRAR

La variable primaria es el tiempo de exploración de cada objeto durante la fase de evaluación. Se considera exploración cuando la punta de la nariz de la rata se encuentra a menos de 1 cm del objeto y orientada hacia él.

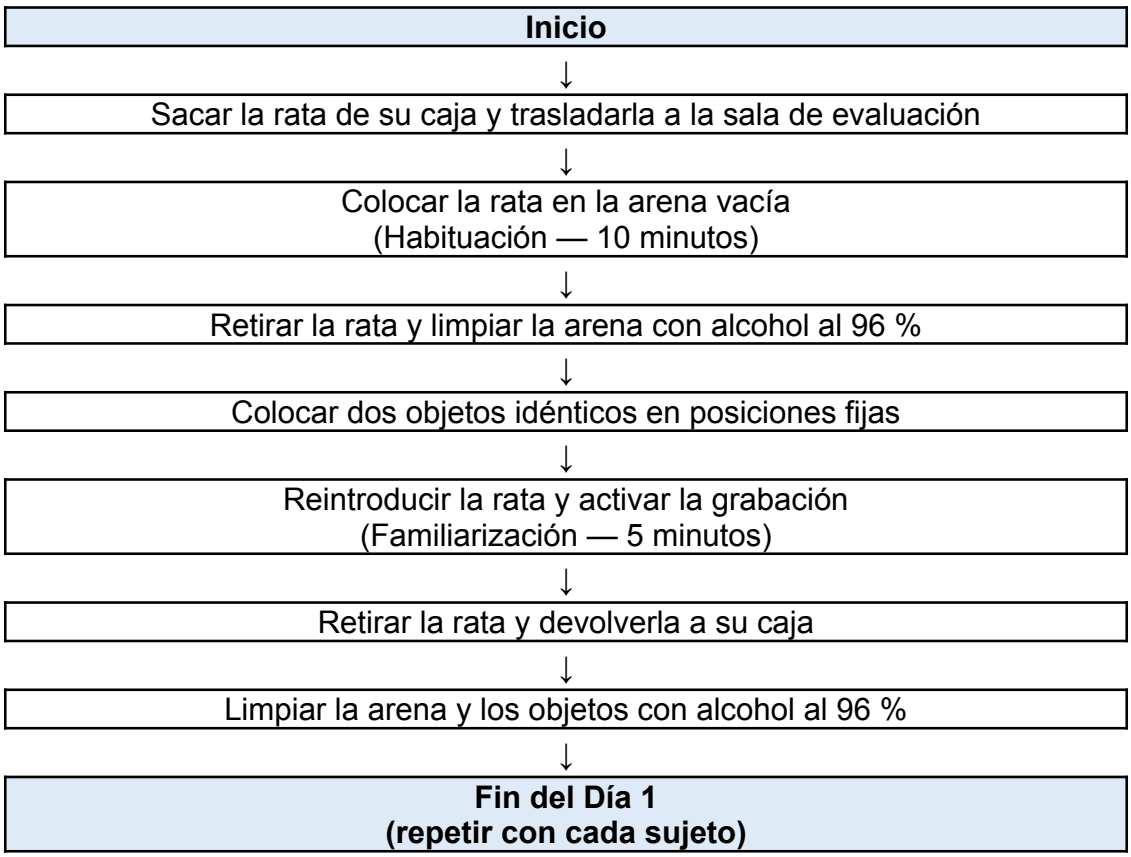
No se contabilizan como exploración: trepar o sentarse sobre el objeto, morderlo o apoyarse en él sin orientar la nariz, ni el tiempo que la rata pasa de espaldas o alejada del objeto. Con dos cronómetros (uno por objeto) puede cronometrarse en tiempo real; en caso de duda, puntuar el video fotograma a fotograma. A partir de los tiempos de exploración del objeto novedoso y del familiar se obtiene el índice de discriminación.

6. ESQUEMA DEL PROCEDIMIENTO

2 días	
Día 1	**Día 2**
Habituación y familiarización	Evaluación

Versión: 01	**PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DEL OBJETO NOVEDOSO**	**Fecha de redacción:** 05-12-2024
Redactado por: Rodrigo Cáceres	**Revisado por:** Dr. Luis Pacheco	**Aprobado por:** Dr. Luis Pacheco

Día 1 - Habituación y familiarización



Versión: 01	**PRUEBA DE RECONOCIMIENTO DEL OBJETO NOVEDOSO**	**Fecha de redacción:** 05-12-2024
Redactado por: Rodrigo Cáceres	**Revisado por:** Dr. Luis Pacheco	**Aprobado por:** Dr. Luis Pacheco

Día 2 - Evaluación (24 horas después)

Inicio

↓

Trasladar la rata a la sala de evaluación

↓

Disponer un objeto familiar y uno novedoso en posiciones fijas

↓

Colocar la rata y activar la grabación (Evaluación - 5 minutos)

↓

Retirar la rata y devolverla a su caja

↓

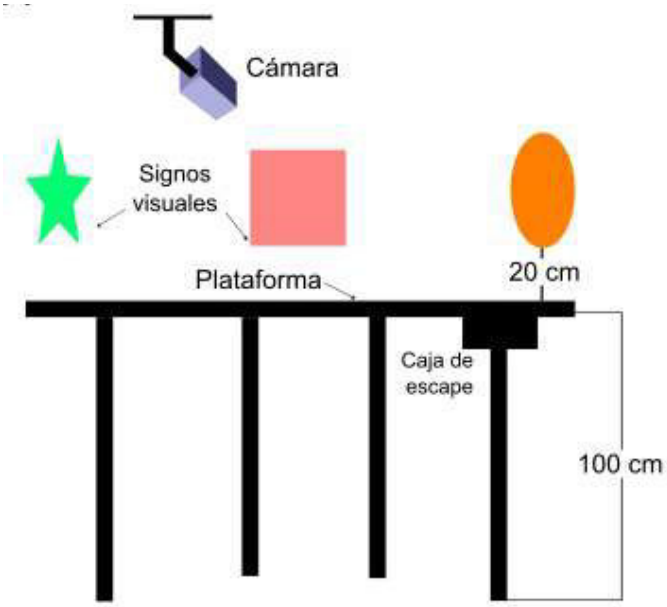
Limpiar la arena y los objetos con alcohol al 96 %

↓

Fin
(repetir con cada sujeto)

APÉNDICE B
PROTOCOLO DE LA PRUEBA DEL LABERINTO DE BARNES

Versión: 01	**LABERINTO DE BARNES**	**Fecha de redacción:** 05-12-2024
Redactado por: Rodrigo Cáceres	**Revisado por:** Dr. Luis Pacheco	**Aprobado por:** Dr. Luis Pacheco



REFERENCIA

Dyomina, A. V., Smolensky, I. V., y Zaitsev, A. V. (2023). Refinement of the barnes and morris water maze protocols improves characterization of spatial cognitive deficits in the lithium-pilocarpine rat model of epilepsy. *Epilepsy & Behavior, 147*, 109391. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2023.109391

1. FUNDAMENTOS

El laberinto de Barnes evalúa la memoria espacial alocéntrica: el animal debe aprender la ubicación fija de una caja de escape sobre una plataforma circular elevada, orientándose mediante claves visuales distales. Constituye una alternativa seca al laberinto acuático de Morris, con menor estrés y mayor seguridad para sujetos que pueden presentar crisis convulsivas, además de una mayor validez ecológica.

2. MATERIALES

- Plataforma (mesa) circular de 122 cm de diámetro, elevada, con 20 agujeros equidistantes en su circunferencia.
- Caja de escape acoplable bajo uno de los agujeros.

Versión: 01	**LABERINTO DE BARNES**	**Fecha de redacción:** 05-12-2024
Redactado por: Rodrigo Cáceres	**Revisado por:** Dr. Luis Pacheco	**Aprobado por:** Dr. Luis Pacheco

- Caja opaca cilíndrica que sirve como punto de partida.
- Cuatro claves visuales (signos) fijadas en las paredes de la sala para la orientación alocéntrica.
- Cámara cenital (p. ej., webcam) y computadora para la grabación de los ensayos.
- Cronómetro.
- Alcohol al 70 %, papel toalla y guantes.
- Termómetro; sala acondicionada a una temperatura de 20 a 23 °C.

3. CONSIDERACIONES PREVIAS

- Duración total: 6 días, con 11 sesiones por sujeto, distribuidas en tres fases: habituación (Día 1), entrenamiento (Días 2 a 5, dos ensayos por día) y aprendizaje reverso (Día 6).
- Limpiar la plataforma y la caja de escape con alcohol al 70 % entre cada ensayo y antes de cambiar de sujeto; esperar la evaporación antes del siguiente ensayo.
- Mantener constantes las claves visuales y la posición del experimentador a lo largo de todo el procedimiento.
- Grabar en video todos los ensayos desde la segunda parte de la habituación en adelante.

4. PROCEDIMIENTO POR CADA ANIMAL

Día 1 - Habituación (~20 minutos)

1. Limpiar la caja de escape y la plataforma con alcohol al 70 %.
2. Sacar la rata de su caja, colocarla dentro de la caja de escape y acoplar esta a la plataforma; mantener a la rata en la caja de escape durante 5 minutos.
3. Retirar la rata, devolverla a una caja individual y limpiar.
4. Colocar la rata en el centro de la plataforma (con la caja de escape acoplada) y dejar que encuentre la caja de escape en un máximo de 5 minutos. Si no la encuentra, conducirla con cuidado hasta el agujero indicado y colocarla dentro. En todo caso, mantenerla en la caja de escape durante 5 minutos.
5. Retirar la rata y limpiar.
6. Colocar la rata en la caja opaca durante 1 minuto y liberarla para que encuentre la caja de escape en un máximo de 5 minutos. Si no la encuentra, conducirla hasta ella. En todo caso, mantenerla en la caja de escape durante 1 minuto.
7. Terminar la sesión y trasladar la rata a la sala de estabulación.

Días 2 a 5 - Entrenamiento (~20 minutos, dos ensayos por día)

Antes de comenzar la fase, fijar la caja de escape en una ubicación definitiva y distinta a la del día de habituación; esta posición permanece constante durante los cuatro días de entrenamiento. Por cada ensayo:

8. Limpiar la caja de escape y la plataforma con alcohol al 70 %.
9. Colocar la rata en el centro de la plataforma bajo la caja opaca durante 1 minuto.
10. Levantar la caja opaca y liberar la rata; esperar hasta 5 minutos a que encuentre la caja de escape. Si no la encuentra, conducirla hasta ella.
11. Mantener la rata en la caja de escape durante 1 minuto.
12. Devolver la rata a su caja individual.

El segundo ensayo se realiza exactamente 5 minutos después de finalizado el primero, repitiendo los mismos pasos.

Día 6 - Aprendizaje reverso (~2 minutos)

13. Limpiar la caja de escape y la plataforma con alcohol al 70 %.
14. Desacoplar y retirar la caja de escape de la plataforma.
15. Colocar la rata en el centro de la plataforma y liberarla.
16. Dejar que la rata explore libremente la plataforma durante 90 segundos.
17. Concluir la prueba y trasladar la rata a la sala de estabulación.

5. PARÁMETROS A REGISTRAR

El parámetro principal es la latencia de escape, definida como el tiempo transcurrido desde que la rata es liberada (al levantar la caja opaca) hasta que ingresa por completo en la caja de escape; se registra en cada ensayo de la fase de entrenamiento (Días 2 a 5). Si la rata no la encuentra dentro del límite de 5 minutos, se registra ese tiempo máximo.

Como medida secundaria puede contabilizarse el número de errores, definido como cada ocasión en que la rata introduce la nariz en un agujero que no corresponde al de la caja de escape antes de encontrarla.

En el ensayo de aprendizaje reverso (Día 6), realizado con la caja de escape retirada, la rata explora libremente la plataforma durante 90 segundos; este ensayo se graba en video y no genera una latencia de escape. Se registra en cambio el tiempo acumulado de permanencia en el cuadrante objetivo.

Versión: 01	LABERINTO DE BARNES	Fecha de redacción: 05-12-2024
Redactado por: Rodrigo Cáceres	**Revisado por:** Dr. Luis Pacheco	**Aprobado por:** Dr. Luis Pacheco

6. ESQUEMA DEL PROCEDIMIENTO

6 días					
Día 1	**Día 2**	**Día 3**	**Día 4**	**Día 5**	**Día 6**
Habituación	Entrenamiento				Aprendizaje reverso

Día 1 - Habituación (~20 minutos)

Inicio

↓

Limpiar la caja de escape y la plataforma con alcohol al 70 %

↓

Sacar la rata de su caja y trasladarla a la sala de evaluación

↓

Colocar la rata en la caja de escape acoplada a la plataforma
(5 minutos)

↓

Retirar la rata y limpiar

↓

Colocar la rata en el centro de la plataforma (caja de escape acoplada);
dejar que la encuentre en un máximo de 5 minutos
(si no la encuentra, conducirla); mantenerla en la caja 5 minutos

↓

Retirar la rata y limpiar

↓

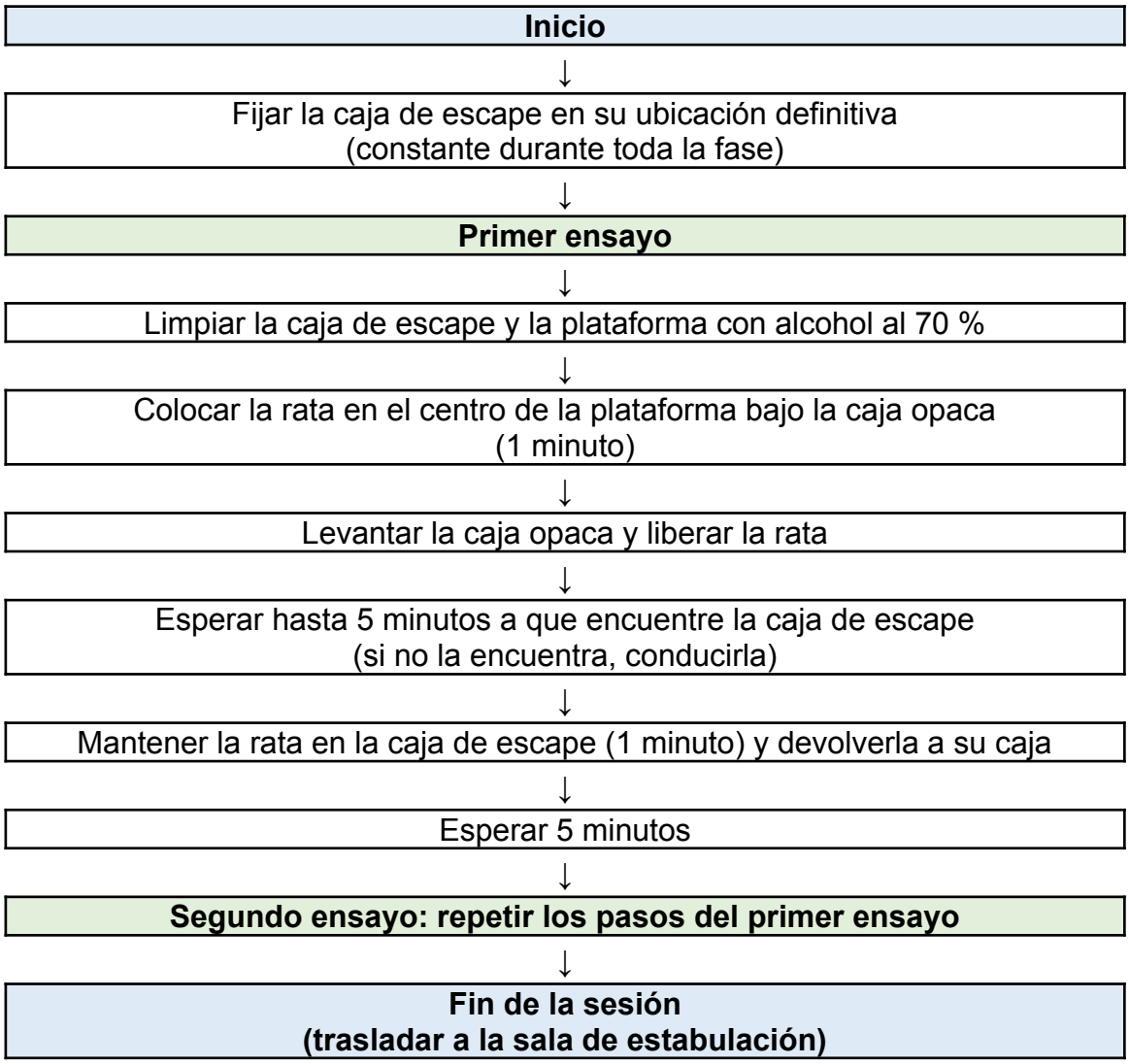
Colocar la rata en la caja opaca (1 minuto) y liberarla;
dejar que encuentre la caja de escape en un máximo de 5 minutos
(si no la encuentra, conducirla); mantenerla en la caja 1 minuto

↓

Fin de la habituación
(trasladar a la sala de estabulación)

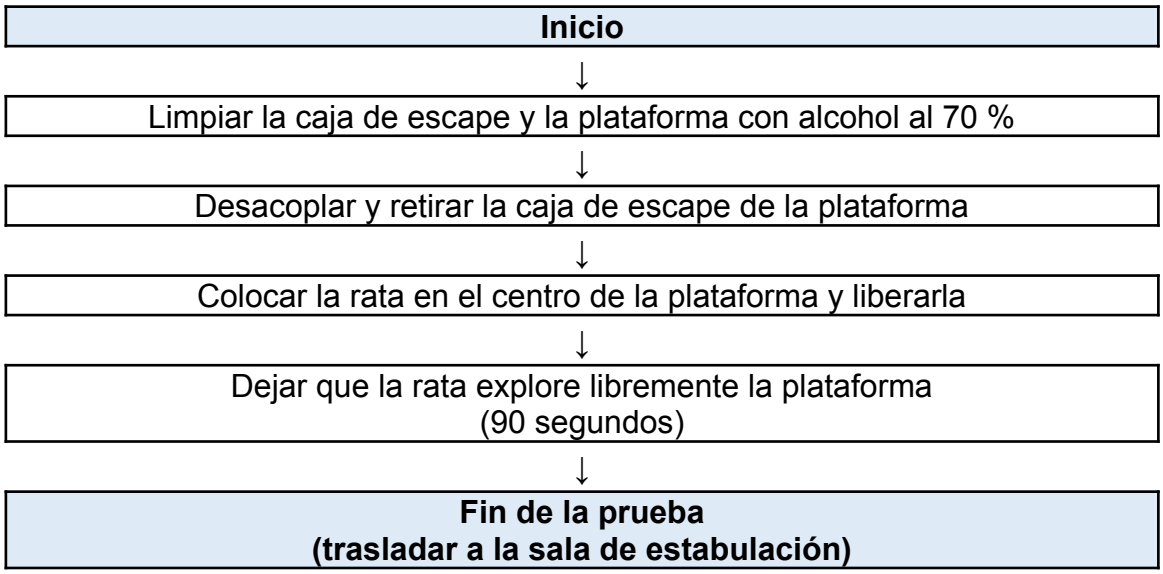
Versión: 01	**LABERINTO DE BARNES**	**Fecha de redacción:** 05-12-2024
Redactado por: Rodrigo Cáceres	**Revisado por:** Dr. Luis Pacheco	**Aprobado por:** Dr. Luis Pacheco

Días 2 a 5 - Entrenamiento (~20 minutos, dos ensayos por día)



Versión: 01	LABERINTO DE BARNES	Fecha de redacción: 05-12-2024
Redactado por: Rodrigo Cáceres	**Revisado por:** Dr. Luis Pacheco	**Aprobado por:** Dr. Luis Pacheco

Día 6 - Aprendizaje reverso (~5 minutos)



APÉNDICE C

PROCEDIMIENTO DETALLADO DE ANÁLISIS DE DEEPLABCUT Y SimBA

C1. REFERENCIAS

(1) Documentaciones oficiales:

Deeplabcut: https://deeplabcut.github.io/DeepLabCut/README.html

SimBA: https://simba-uw-tf-dev.readthedocs.io/en/latest/

DLCAnalyzer: https://github.com/ETHZ-INS/DLCAnalyzer

(2) Repositorios:

Deeplabcut: https://github.com/DeepLabCut/DeepLabCut

SimBA: https://github.com/sgoldenlab/simba

DLCAnalyzer: https://github.com/ETHZ-INS/DLCAnalyzer

(3) Servicio de computación remota usado para entrenamiento de modelo:

(1) Página principal: https://vast.ai/

(2) Documentación: https://docs.vast.ai/

C2. OBJETIVO

Con el propósito de contribuir a la reproducibilidad del estudio y para referencia futura (teniendo en cuenta que, a pesar de ser ampliamente utilizadas en el presente año en publicaciones científicas, y ser software libre, existen pocas referencias de uso en idioma español para estas herramientas), en este apartado se describe en detalle el procedimiento para realizar el análisis de comportamiento por métodos computacionales, incluido todo estos pasos:

Etapa	Lugar de computación	Propósito
C3. Codificación etiquetado	Computadora local (tarea liviana)	Crear el proyecto, extraer y etiquetar fotogramas (GUI), definir *bodyparts* y esqueleto
C4. Entrenamiento e inferencia	Servidor remoto (tarea computacionalmente demandante que requiere un GPU potente)	Crear dataset, entrenar, evaluar, inferir (analizar videos), filtrar y generar videos etiquetados

Etapa	Lugar de computación	Propósito
C5. Interpolación de trayectorias	Computadora local (tarea liviana)	Usar DLCAnalyzer para interrupciones en las trayectorias causados por artefactos en la
C6. Producir datos procesados finales	Computadora local (tarea liviana)	Usar SimBA para calcular tiempos de permanencia y frecuencia de entrada a regiones de interés y parámetros complementarios como la distancia y velocidad

No se incluye el análisis estadístico de los datos producidos, que se detalla ampliamente en el apartado metodológico y los apéndices correspondientes.

El trabajo se simplifica enormemente si se cuenta localmente con una computadora potente con GPU para el entrenamiento e inferencia realizado por Deeplabcut. Para más detalles en este respecto, consultar esta sección de su documentación:
https://deeplabcut.github.io/DeepLabCut/docs/recipes/TechHardware.html

C2. INSTALACIÓN

Nota importante: A la fecha del análisis (2025), en muchas guías de instalación y en muchas publicaciones se menciona el uso del motor Tensorflow. Este se ha hecho obsoleto en versiones posteriores del programa y en muchos sistemas su instalación es imposible (ejemplo: instalar Deeplabcut con pip mediante el comando "`pip install "deeplabcut[tf,gui]`" conduce a un conflicto de dependencias sin resolución). Se recomienda en cambio usar el motor Pytorch.

1) Instalación en Linux

   (1) Abrir un terminal

   (2) Digitar secuencialmente los siguientes comandos:

      (1) python -m venv entorno_deeplabcut

      (2) source entorno_deeplabcut/bin/activate

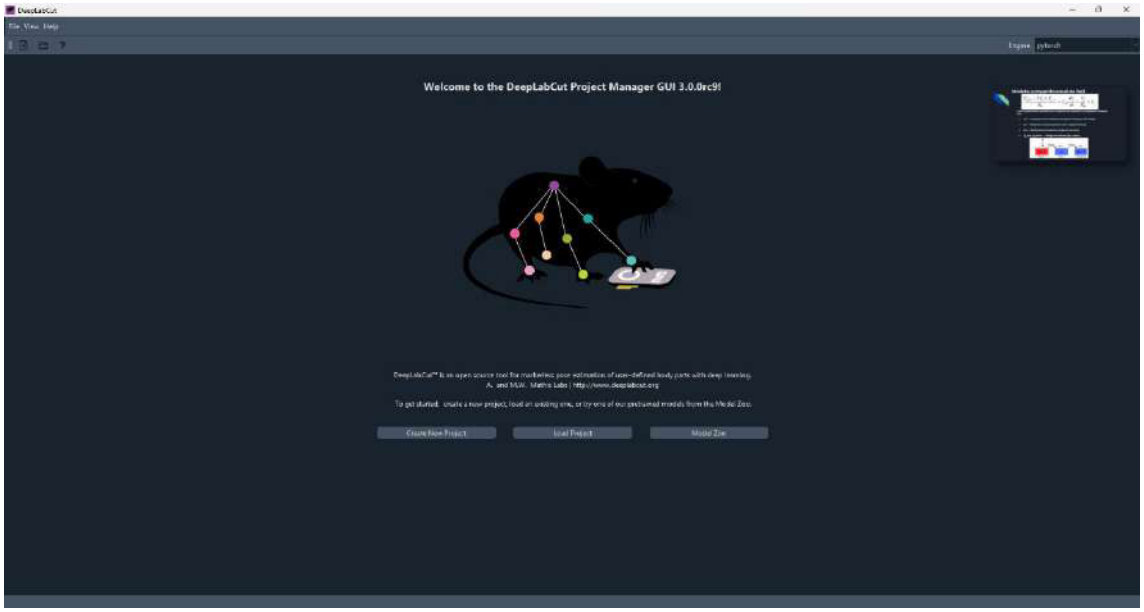
      (3) pip install "deeplabcut[gui]"

      (4) Abrir Deeplabcut con el comando python -m deeplabcut

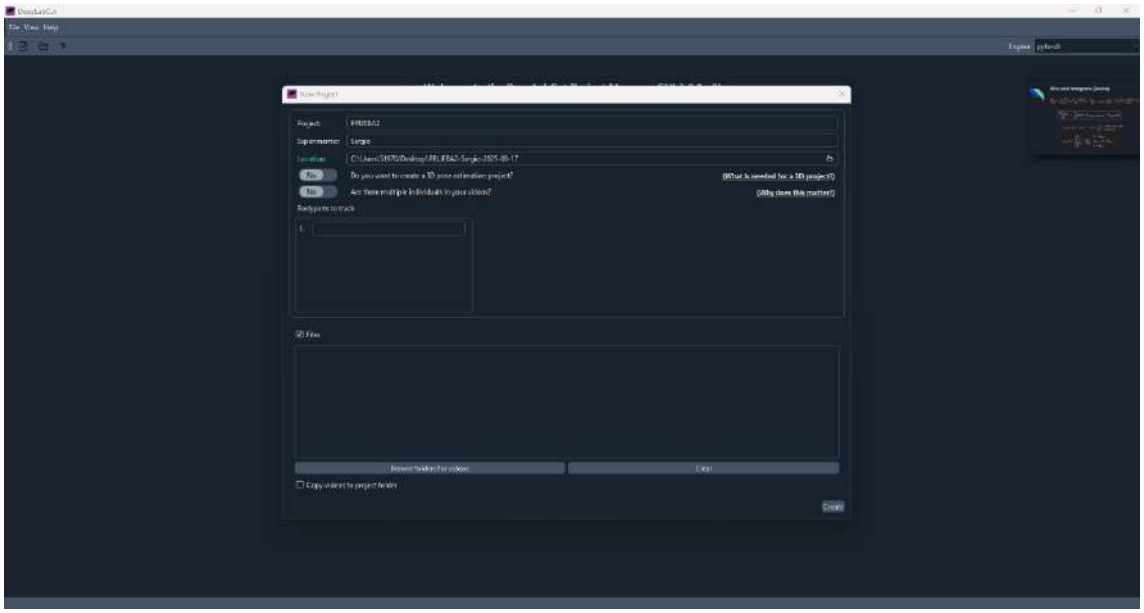
C3. USO DE DEEPLABCUT

1) Abrir Deeplabcut

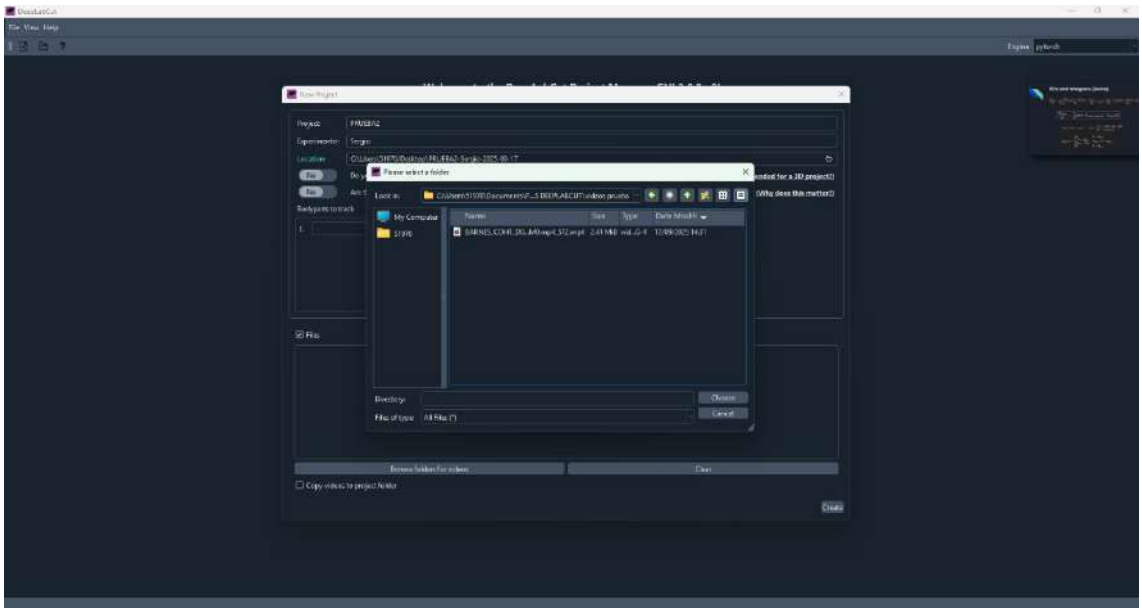
2) Debe mostrarse esta pantalla de inicio. Esta muestra la versión de Deeplabcut (parámetro reportable) Hacer click en “Create New Project”.



2) Esta es la ventana que sale para crear un proyecto nuevo, darle un nombre de proyecto (primer campo), y un nombre de experimentador (segundo campo). Y determinar la carpeta del proyecto (tercer campo, asegurarse de contar con espacio suficiente en el disco donde se ubica esta carpeta).



3) Agregar videos al proyecto (el menú acepta carpetas enteras conteniendo videos, no archivos individuales).



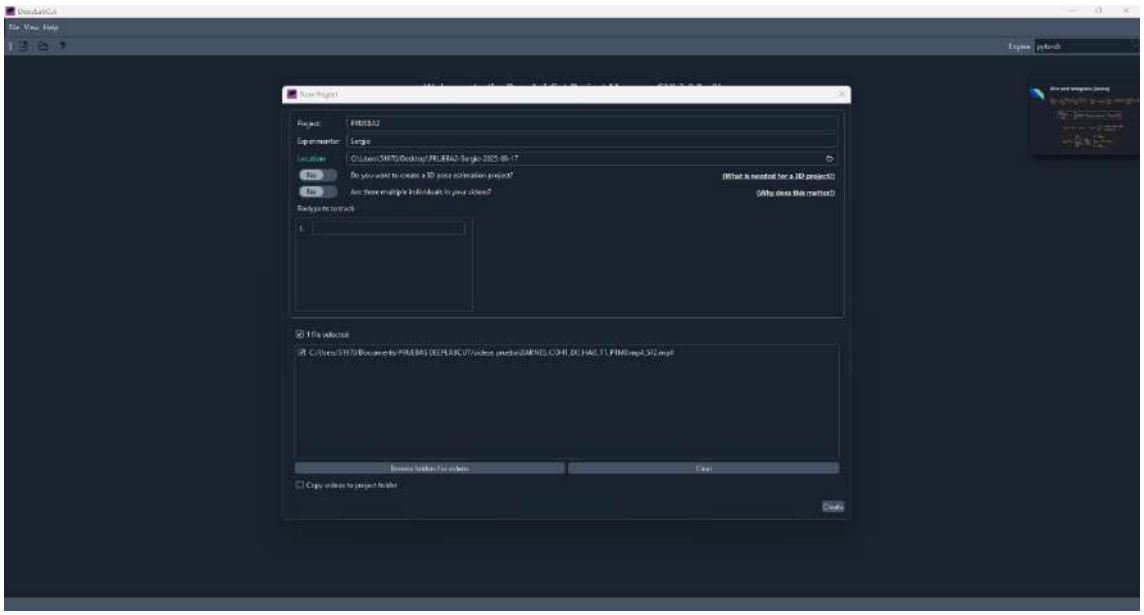
Consejos para la importanción de videos:

- Una vez agregadas las carpetas con todos los videos, y se crea el proyecto, se crea un archivo llamado “project.yaml” en el primer nivel de la carpeta del proyecto. Este es el archivo de configuración principal del proyecto (los parámetros de los siguientes pasos se graban aquí) y tiene además una lista de todos los videos agregados. Este archivo esta implicado en un extraño bug el cuál agrega saltos de líneas a los nombres de archivos declarados en “project.yaml”, cuando la ruta de las carpetas tiene espacios. Por ejemplo al agregar “C://Usuarios/Usuario1/Mi experimento/Mis videos/Ensayo 1/” aparece en “project.yaml” cortado en dos o más líneas violando la sintáxis de yaml. Esto parece no suceder cuando el nombre de la ruta es “C://Usuarios/Usuario1/Mi_experimento/Mis_videos/Ensayo_1/”. Una opción para mitigar esto es quitar espacios a las rutas, renombrando las carpetas de nuestros videos antes de importarlos, otra es corrigiendo manualmente el archivo “project.yaml” luego de la importación (editar con un editor de texto). A continuación muestro un ejemplo de como deberían estar declaradas correctamente las rutas de los videos en “project.yaml” :

```
# Annotation data set configuration (and individual video cropping parameters)
video_sets:
  /home/usuario/Desktop/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos/TRAINING_D1_T1_P5M1.mp4_512.mp4:
    crop: 0, 512, 0, 512
  /home/usuario/Desktop/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos/TRAINING_D1_T1_P4M2.mp4_512.mp4:
    crop: 0, 512, 0, 512
  /home/usuario/Desktop/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos/TRAINING_D1_T1_P5M2.mp4_512.mp4:
    crop: 0, 512, 0, 512
  /home/usuario/Desktop/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos/TRAINING_D1_T2_P5M0.mp4_512.mp4:
    crop: 0, 512, 0, 512
  /home/usuario/Desktop/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos/TRAINING_D1_T2_P5M3.mp4_512.mp4:
    crop: 0, 512, 0, 512
  /home/usuario/Desktop/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos/TRAINING_D1_T2_P4M2.mp4_512.mp4:
    crop: 0, 512, 0, 512
  /home/usuario/Desktop/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos/TRAINING_D1_T1_P1M2.mp4_512.mp4:
    crop: 0, 512, 0, 512
  /home/usuario/Desktop/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos/TRAINING_D1_T2_P3M1.mp4_512.mp4:
    crop: 0, 512, 0, 512
  /home/usuario/Desktop/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos/TRAINING_D1_T1_P3M2.mp4_512.mp4:
    crop: 0, 512, 0, 512
  /home/usuario/Desktop/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos/TRAINING_D1_T1_P2M1.mp4_512.mp4:
    crop: 0, 512, 0, 512
  /home/usuario/Desktop/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos/TRAINING_D1_T1_P5M4.mp4_512.mp4:
    crop: 0, 512, 0, 512
  /home/usuario/Desktop/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos/TRAINING_D1_T1_P4M1.mp4_512.mp4:
    crop: 0, 512, 0, 512
```

- Cuidado con los videos de tu experimento nombrados de manera similar (incluso si están en carpetas diferentes). Si se marca la opción “[ ] Copy videos to project folder” (la opción indicada para hacer computación remota dado que todas las piezas del proyecto se encuentran auto-contenidas en una sola carpeta a transferir), todos los videos de todas las carpetas se apilan en la carpeta “videos” dentro de la carpeta del proyecto. Si están nombrados de manera idéntica (ejemplo: cada video es nombrado como código de sujeto, y esta dentro de carpetas que representan cada ensayo de una prueba), se sobreescribirán uno encima del otro. Usar nombres únicos de archivo para cada video. Es mejor incluso si estos incluyen otros metadatos (como fecha, ensayo, y lugar).
- Los videos a usar en este paso son para el entrenamiento del modelo, no para la inferencia (que es usar el modelo entrenado en videos nuevos). A mí me parece una buena práctica, antes de abrir Deeplabcut por primera vez, el hacer un muestreo de videos representativos (una cantidad similar o proporcionada de videos por cada condición de iluminación, color de pelaje de los sujetos, prueba comportamental, etc) del experimento y crear otra carpeta especial para esto con los videos seleccionados copiados. Por defecto, en pasos posteriores se seleccionaran 20 fotogramas por cada uno de los videos que hayamos agregado, entonces uno ya puede determinar aquí el número de total de fotogramas que se usaron en el training (parámetro reportable).

4) Además de lo antes mencionado, en la pantalla de creación de proyecto también se muestra una lista para agregar partes corporales (parámetro reportable). Sorpresivamente esto no funcionó en las pruebas que hicimos (las partes corporales ingresadas aquí no aparecieron en la interfaz de codificado que veremos más abajo).



La mejor solución es declarar las partes manualmente editando "config.yaml" en la carpeta del proyecto. De hecho esta era la procedimiento correcto para declarar las partes en versiones anteriores del programa (como las que usé para mi tesis).

Entonces abrimos "config.yaml" con un editor (como el Bloc de Notas) y editamos la siguiente sección ubicándola en el archivo:

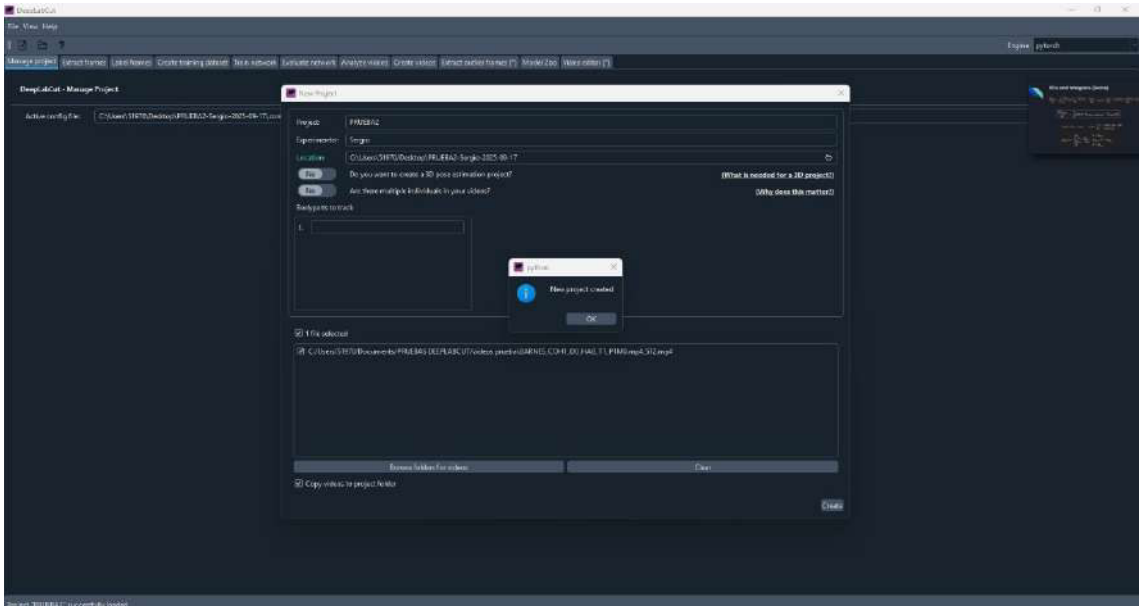
```
bodyparts:
- nose
- neck
- leftear
- rightear
- spine
- tailbase

    # Fraction of video to start/s
```

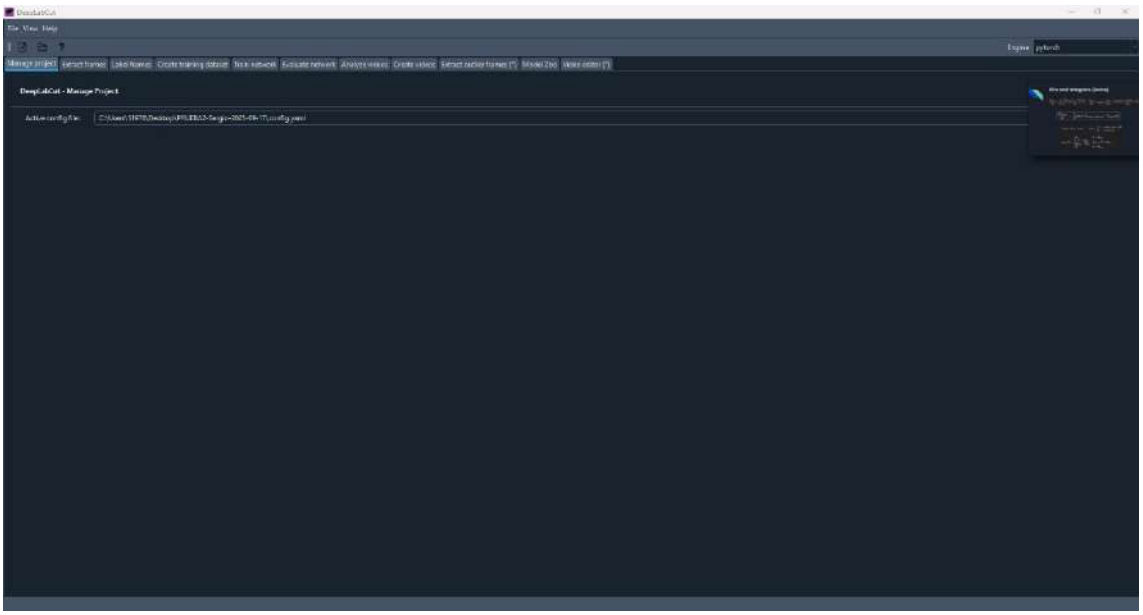
Seguir la sintáxis exacta (Un guión, seguido de la parte del cuerpo. Las partes del cuerpo no deben contener espacios, entonces "- oreja derecha" no es aceptable, pero "- orejaderecha" si es aceptable. Una línea por parte del cuerpo).

Aquí también se puede definir el esqueleto, que son las líneas que conectan los puntos de las partes del cuerpo, y aunque sé vagamente que son incluidos en algunos análisis, personalmente los uso porque se ven muy bien en los videos:

5) Una vez configurado todo esto, darle al botón de create y se creará una carpeta de proyecto con archivos de configuración.

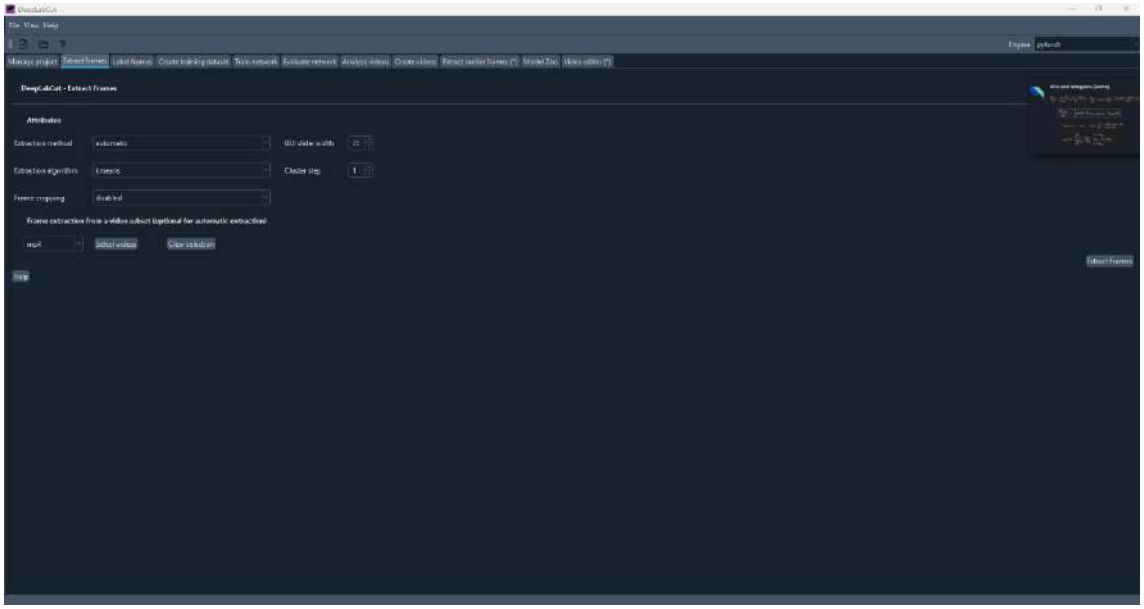


5) Luego de creado el proyecto aparecerán todas estas pestañas las cuáles representan cada una los pasos del análisis y deberán ser abiertas en secuencia.

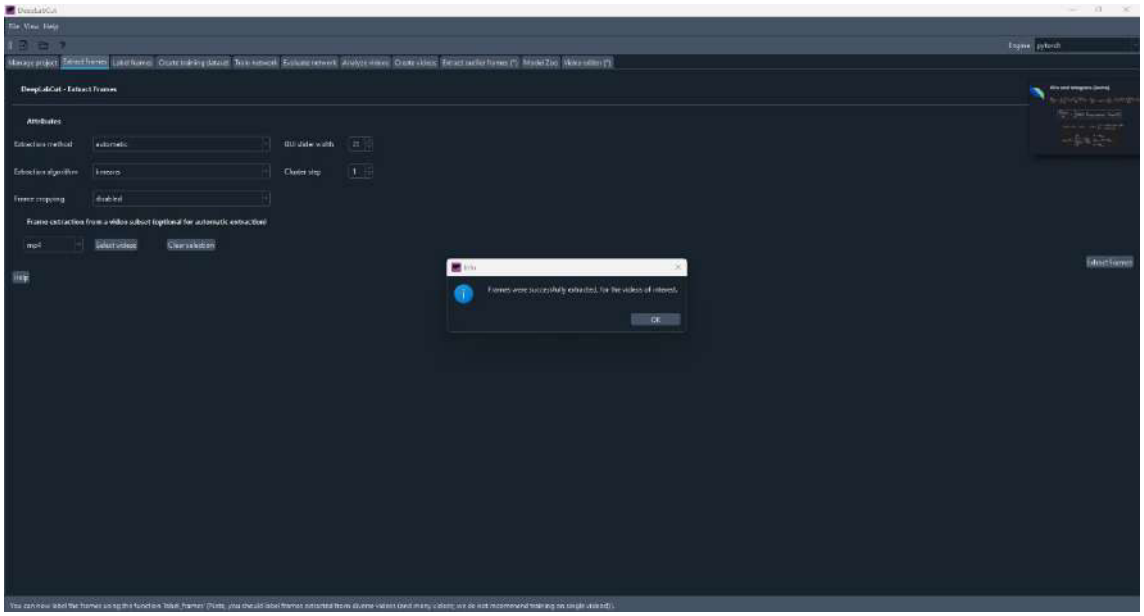


Si no aparecen, o con el objetivo de abrir en sucesivas ocasiones el proyecto ya creado, hacer lo siguiente:

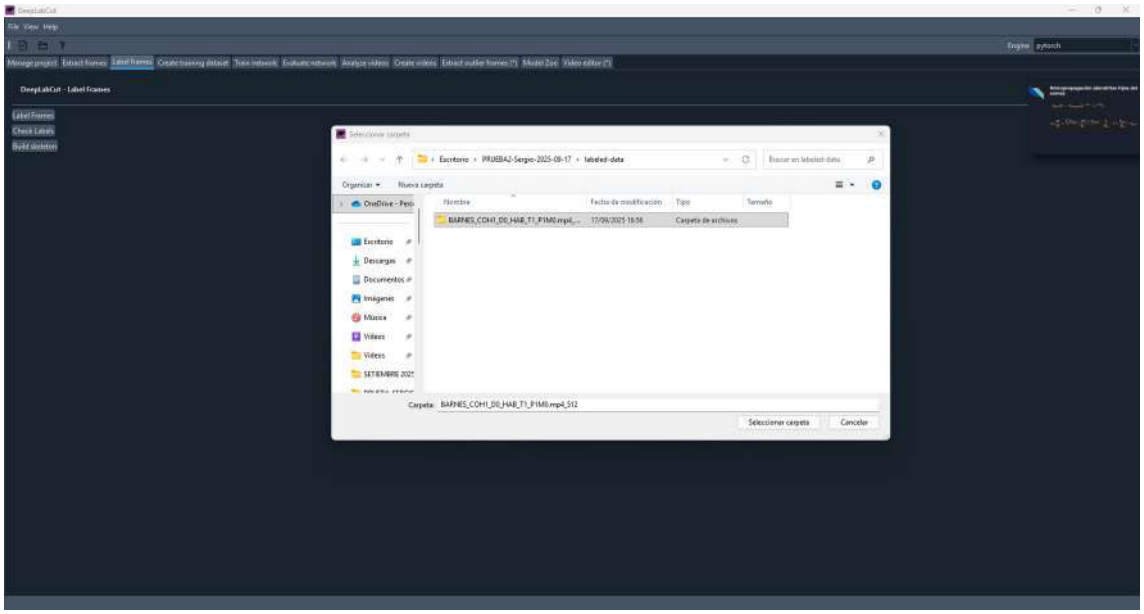
6) Extracción de cuadros para codificación manual (se obtuvo buenos resultados usando las siguientes opciones que vienen por defecto).



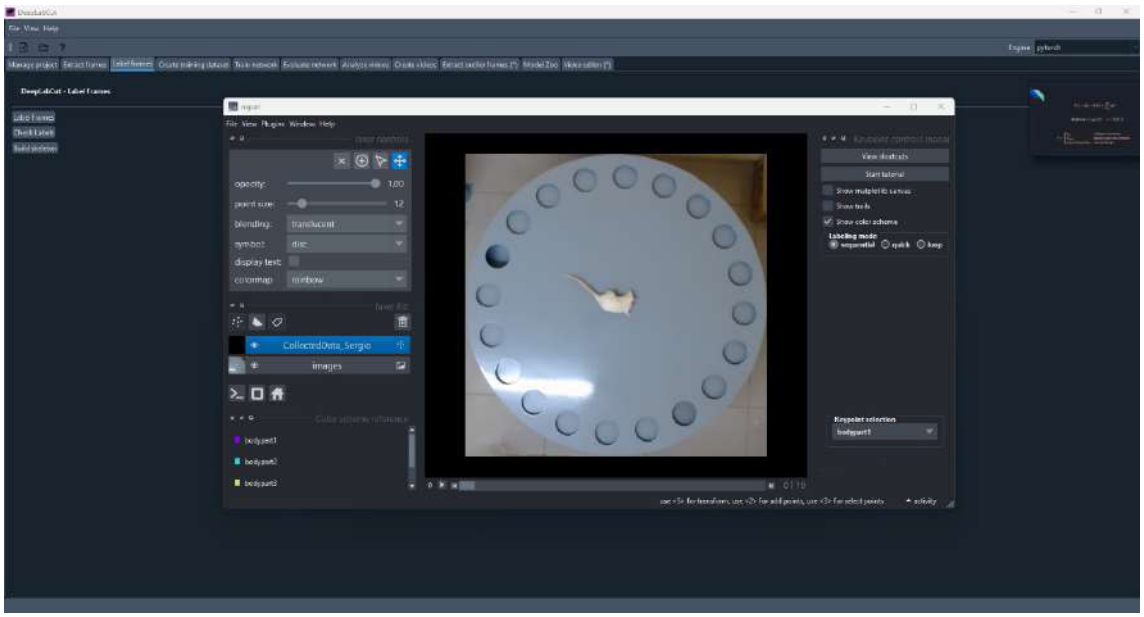
7) Confirmación de cuadros extraídos. Estos se crean en varias carpetas. Una por cada video del proyecto



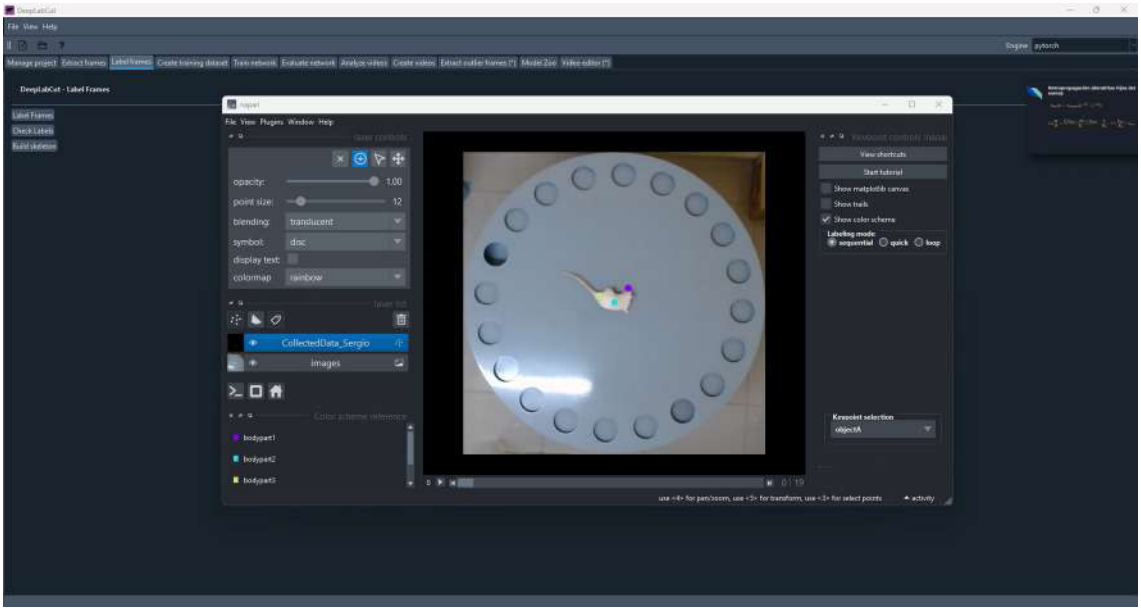
8) Ahora en la siguiente pestaña trabajamos en cada una de esas carpetas generadas anteriormente



9) Al seleccionar una de las carpetas aparecerá esta interfaz para codificar los puntos en cada cuadro



10) Usar los controles para etiquetar las partes corporales definidas al crear el proyecto. Para un uso más detallado consultar esta sección del manual: https://deeplabcut.github.io/DeepLabCut/docs/gui/napari/basic_usage.html#file-napari-dlc-basic-usage



Hacer esto secuencialmente para todas las carpetas que reprentan cada video que se planeó etiquetar representativamente. Guardar cada vez que se termine una carpeta con el menú “File -> Save Selected Layer”, o el atajo Ctrl+S.

Una vez hecho esto se puede cerrar de forma segura la ventana del proyecto de Deeplabcut y subirla al servidor que hará la inferencia

C4. ENTRENAMIENTO E INFERENCIA EN MÁQUINA REMOTA

1. Preparación del entorno en el servidor

El trabajo en el servidor comienza estableciendo una conexión segura por medio del protocolo SSH. Una vez dentro, la primera comprobación consiste en verificar que la tarjeta gráfica es visible para el sistema y que el controlador se encuentra correctamente instalado, lo que se consigue con una sola orden:

```
ssh usuario@direccion_del_servidor
nvidia-smi
```

La salida de esa orden debe mostrar el nombre de la tarjeta gráfica junto con la versión del controlador y la memoria disponible. Confirmada la presencia de la GPU, se prepara un entorno de trabajo aislado con la herramienta conda, dentro del cual se instalan PyTorch con soporte para CUDA y la propia biblioteca DeepLabCut en la misma versión utilizada en el proyecto:

```
conda create -n dlc python=3.10 -y
conda activate dlc
pip install torch torchvision --index-url
https://download.pytorch.org/whl/cu121
pip install "deeplabcut==3.0.0rc10"
```

Terminada la instalación, resulta prudente confirmar que PyTorch reconoce la GPU antes de invertir horas de cómputo. Una breve instrucción en el intérprete de Python basta para ello, y debe responder de manera afirmativa e indicar el nombre de la tarjeta:

```
python -c "import torch;
print(torch.cuda.is_available(),
torch.cuda.get_device_name(0))"
```

En un servidor sin entorno gráfico, DeepLabCut se carga automáticamente en su modo ligero, que prescinde de las interfaces de etiquetado y refinamiento. Esto es precisamente lo deseado en esta fase, pues todo el trabajo restante se ejecuta desde la línea de órdenes.

2. Traslado del proyecto al servidor

Con el entorno listo, se transfiere la carpeta del proyecto ya etiquetado desde la computadora local hacia el servidor. Para ello se emplea la herramienta rsync, que copia solo lo que ha cambiado y permite reanudar la transferencia si esta se interrumpe. De todo el proyecto, lo verdaderamente imprescindible que debe viajar es el archivo de configuración, la carpeta con los fotogramas etiquetados y la carpeta con los videos que se desean analizar:

```
rsync -avhP ~/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/ \
  usuario@direccion_del_servidor:~/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-
30/
```

Una vez copiada la carpeta, se edita en el servidor el archivo de configuración para que la ruta del proyecto apunte a su nueva ubicación. Este es el ajuste al que se aludía en la introducción y sin el cual ninguna de las instrucciones posteriores encontraría los archivos que necesita:

```
project_path: /home/usuario/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30
```

3. Llamar la biblioteca dlc y pathlib en todos los scripts

Cada una de las tareas descritas a continuación se ejecutó mediante un breve script de Python. Todos ellos comparten la misma cabecera, que importa la biblioteca, declara la ubicación del archivo de configuración y de la carpeta de videos, y construye la lista de rutas absolutas de los videos que se van a procesar. Por claridad, dicha cabecera se muestra una sola vez, y en los apartados siguientes se presenta únicamente la instrucción propia de cada tarea:

```
import deeplabcut as dlc
from pathlib import Path

CONFIG = "/home/usuario/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-
30/config.yaml"
VIDEOS = "/home/usuario/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-
30/videos"

vids = [str(p.resolve()) for p in Path(VIDEOS).iterdir()
if p.is_file()]
```

4. Creación del conjunto de entrenamiento

El primer paso propiamente computacional consiste en transformar los fotogramas etiquetados en un conjunto de entrenamiento con el que la red pueda aprender. En esta operación se activa, además, la aumentación de datos mediante la biblioteca albumentations, que introduce variaciones controladas en las imágenes (giros, cambios de brillo y contraste, y otras transformaciones) para que el modelo resultante generalice mejor. La instrucción que la ejecuta es:

```
dlc.create_training_dataset(CONFIG,
augmenter_type="albumentations")
```

Esta operación deja registrado el reparto de los datos (en este proyecto, el 95% para entrenamiento) bajo la denominación interna del conjunto y solo necesita repetirse cuando se modifican los fotogramas etiquetados.

5. Entrenamiento de la red neuronal

El entrenamiento es, con diferencia, la tarea más prolongada de todo el procedimiento, y es también la razón principal por la que se recurrió a un servidor con GPU. La instrucción indica de forma explícita que el cálculo debe realizarse sobre la tarjeta gráfica, fija en mil el número de épocas y solicita que se conserven los diez mejores estados intermedios del modelo, guardando uno cada diez épocas e informando del progreso cada quinientas iteraciones:

```
dlc.train_network(
```

```
    CONFIG,
    shuffle=1,
    trainingsetindex=0,
    max_snapshots_to_keep=10,
    displayiters=500,
    save_epochs=10,
    device="cuda:0",
    epochs=1000,
)
```

Como el entrenamiento se extiende durante horas, conviene lanzarlo dentro de una sesión persistente que sobreviva al cierre de la conexión remota. La herramienta tmux cumple ese cometido: permite iniciar el proceso, desconectarse del servidor y volver más tarde para consultar su avance. La ejecución se acompaña, asimismo, de un archivo de registro que recoge toda la salida del programa:

```
tmux new -s dlc
conda activate dlc
python train.py 2>&1 | tee train.log
```

A lo largo del entrenamiento, DeepLabCut conserva de manera automática el estado del modelo que mejor desempeño alcanza. En este proyecto ese óptimo se obtuvo en la época sesenta, de modo que el estado guardado como el mejor fue el correspondiente a ese momento. Sobre ese estado se apoyan todas las tareas siguientes.

6. Evaluación de la red

Antes de aplicar el modelo al conjunto completo de videos conviene medir su precisión. La evaluación compara las predicciones de la red con las etiquetas de referencia, tanto en el grupo de imágenes reservado para entrenamiento como en el reservado para prueba, y genera además representaciones gráficas de los resultados:

```
dlc.evaluate_network(CONFIG, Shuffles=[1], plotting=True)
```

Los valores obtenidos confirmaron un modelo de buen desempeño. El error medio cuadrático fue de aproximadamente 2,37 píxeles sobre el conjunto de entrenamiento y de 3,08 píxeles sobre el de prueba; teniendo en cuenta que las imágenes miden 512 por 512 píxeles, un error de tres píxeles en datos no vistos representa una localización muy ajustada de los puntos corporales. Las medidas de precisión media resultaron, de igual modo, elevadas, superando el noventa y dos por ciento en el conjunto de prueba. Con estos resultados quedó justificado proceder al análisis de la totalidad de los videos.

7. Análisis de los videos

El análisis es la tarea que aplica el modelo entrenado a cada uno de los videos y produce, cuadro por cuadro, las coordenadas estimadas de los seis puntos corporales. La instrucción recorre todos los videos de la carpeta, emplea la GPU, y guarda los resultados tanto en el formato interno de DeepLabCut como en archivos de valores separados por comas, más cómodos para el análisis posterior:

```
dlc.analyze_videos(
    CONFIG,
    vids,
    videotype="mp4",
    shuffle=1,
    trainingsetindex=0,
    gputouse=0,
    save_as_csv=True,
    destfolder="/home/usuario/PROYECTO_TESIS-
Rodrigo-2025-07-30/results"
)
```

Sobre la RTX 4090 el rendimiento fue notable lo que permitió procesar en una sola sesión los cientos de videos de ambos paradigmas.

```
python analyze.py 2>&1 | tee anlyz.log
```

8. Filtrado de las predicciones

Las coordenadas obtenidas directamente del análisis presentan pequeñas oscilaciones de un cuadro a otro. Para atenuarlas y obtener trayectorias más suaves se aplicó un filtro de tipo ARIMA sobre las predicciones, ajustando los grados de sus componentes autorregresiva y de media móvil:

```
dlc.filterpredictions(
    CONFIG,
    vids,
    videotype=".mp4",
    filtertype="arima",
    ARdegree=5,
    MAdegree=2
)
```

El filtrado genera, junto a los archivos originales, versiones depuradas de las coordenadas, que son las que se utilizan para la representación visual y para el análisis del comportamiento.

9. Generación de los videos etiquetados

El último paso de esta fase produce, para cada video, una copia en la que se superponen los puntos corporales estimados y el esqueleto que los une. Estos videos cumplen una función de control de calidad, pues permiten inspeccionar visualmente hasta qué punto el modelo sigue con fidelidad al animal. La instrucción se apoya en las predicciones ya filtradas y dibuja el esqueleto sobre cada cuadro:

```
dlc.create_labeled_video(
    CONFIG,

["/home/usuario/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/videos
/"],
    videotype='.mp4',
    fastmode=True,
    save_frames=False,
    filtered=True,
    overwrite=False,
    draw_skeleton=True
)
```

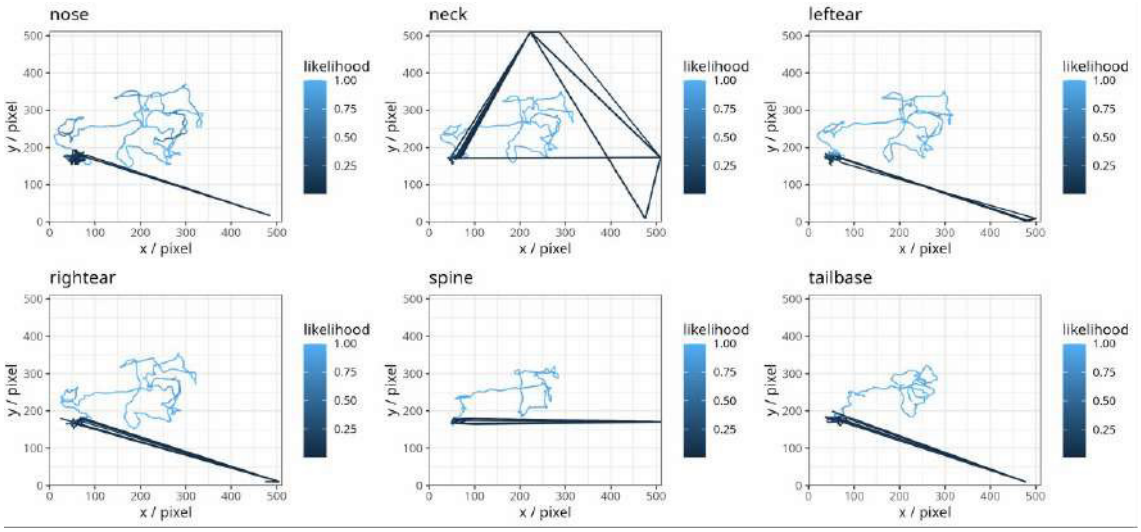
El resultado es un conjunto de videos etiquetados que reflejan, cuadro a cuadro, la estimación de pose depurada y que sirvieron como comprobación final de la calidad del modelo.

10. Recuperación de los resultados

Concluido el cómputo, resta traer de vuelta a la computadora local únicamente las salidas del proceso, sin necesidad de transferir los pesados archivos del modelo. De nuevo se recurre a rsync, esta vez en sentido inverso, para copiar la carpeta de resultados y los videos etiquetados:

```
rsync -avhP \
  usuario@direccion_del_servidor:~/PROYECTO_TESIS-
Rodrigo-2025-07-30/results/ \
  ~/PROYECTO_TESIS-Rodrigo-2025-07-30/results/
```

Con las coordenadas ya disponibles en el equipo local. Pero a menudo adolecen de un problema común que es la pérdida de la detección por algunos instants de tiempo (algunas decenas de milisegundos), lo cuál se expresa en grandes saltos en la detección, como se puede apreciar en la siguiente imagen. Si usamos dichos datos como están, se corre el peligro de extraer parámetros inadecuados como velocidad y distancia recorrida anormales.



Este se trata de un problema conocido y común a varios paquetes de estimación de pose comercial y libre, no estando Deeplabcut extento. Entonces la solución es realizar interpolación de las trayectorias.

C5. INTERPOLACIÓN DE TRAYECTORIAS CON DLCANALYZER

Para depurar esos puntos antes del análisis conductual se empleó DLCAnalyzer, un conjunto de funciones en lenguaje R desarrollado por el Instituto de Neurociencia de la ETH de Zúrich y disponible públicamente en el repositorio https://github.com/ETHZ-INS/DLCAnalyzer. La idea que guía este paso es sencilla: allí donde el modelo no estuvo suficientemente seguro, se prefiere descartar la coordenada y reconstruirla por interpolación a partir de los cuadros vecinos, obteniendo así trayectorias continuas y libres de saltos espurios.

1. Preparación del entorno

El procedimiento se ejecutó en R. Tras instalar las bibliotecas de las que depende DLCAnalyzer (entre ellas sp, imputeTS, ggplot2, data.table y dplyr), se carga en memoria el archivo de funciones del paquete, que reúne todas las herramientas de lectura, limpieza y representación empleadas más adelante. También se fijan de antemano los dos parámetros del análisis: la frecuencia de treinta cuadros por segundo de los videos y el umbral de verosimilitud por debajo del cual una coordenada se considera no fiable, que se estableció en 0,50.

```
source("DLCAnalyzer_Functions_final.R")

likelihoodcutoff <- 0.50

fps <- 30
```

```
input_folder  <- "./csv/"

output_folder <- "./nuevo_csv/"
```

2. Exploración inicial sobre un archivo

Antes de procesar el conjunto completo, se ensayó el flujo sobre un único archivo para visualizar el efecto de la limpieza y decidir el umbral adecuado. En este ensayo se lee el archivo de coordenadas, se representan los seis puntos corporales, se depuran los de baja confianza y se examina la trayectoria resultante:

```
Tracking <- ReadDLCDataFromCSV(file =
"...snapshot_best-60.csv", fps = 30)

PlotPointData(Tracking, points = c("nose","neck","leftear",


"rightear","spine","tailbase"))

Tracking <- CleanTrackingData(Tracking, likelihoodcutoff =
0.95)

Tracking <- CalculateMovement(Tracking, movement_cutoff = 5,
integration_period = 5)

PlotDensityPaths(Tracking, points = c("nose"))
```

3. Depuración de todos los videos

Comprobado el comportamiento del método, se aplicó a la totalidad de los archivos. Para ello se definió una función que encapsula el tratamiento de un archivo y se recorrió con ella toda la carpeta de entrada. La función lee las coordenadas con ReadDLCDataFromCSV, guarda primero una imagen de la trayectoria original a modo de referencia, y a continuación llama a CleanTrackingData: esta marca como ausentes todos los puntos cuya verosimilitud es inferior al umbral y los reconstruye por interpolación temporal. Depuradas las coordenadas, se vuelven a escribir respetando la estructura de dos filas de encabezado propia de los archivos de DeepLabCut, de modo que el resultado sea indistinguible de un archivo original y pueda utilizarse sin cambios en los análisis posteriores. Por último, se guarda una segunda imagen que permite comparar la trayectoria antes y después de la limpieza:

```
pipeline <- function(path){

    Tracking <- ReadDLCDataFromCSV(path, fps = fps)
```

```
    PlotPointData(Tracking, img_file =
paste0(output_viejo_folder_img,

Tracking$filename, ".png"))
    Tracking <- CleanTrackingData(Tracking, likelihoodcutoff
= likelihoodcutoff)

    # reconstruir la estructura de csv de deeplabcut
    csv_original  <- read.csv(path)
    encabezado_csv <- csv_original[1:2,]
    trackdf <- as.data.frame(Tracking$data) %>% select(-
contains(".frame"))
    frame_idx <- 0:(nrow(trackdf)-1)
    trackdf <- cbind(frame_idx, trackdf)
    colnames(trackdf) <- colnames(encabezado_csv)
    nuevo_csv <- rbind(encabezado_csv, trackdf)
    write.csv(nuevo_csv, paste0(output_folder,
Tracking$filename),
              row.names = FALSE)

    PlotPointData(Tracking, img_file =
paste0(output_folder_img,

Tracking$filename, ".png"))
}

files <- list.files(input_folder)
RunPipeline(files, input_folder, FUN = pipeline)
```

La función RunPipeline se limita a aplicar el tratamiento a cada archivo de la carpeta, uno tras otro. Al concluir, la carpeta de salida contiene una versión depurada de cada archivo de coordenadas, y las carpetas de imágenes

conservan las representaciones de antes y después que sirvieron como control visual de la calidad de la corrección. Estas trayectorias ya limpias, y no las originales, fueron las que alimentaron el análisis conductual del laberinto de Barnes y de la prueba de reconocimiento de objeto novedoso.

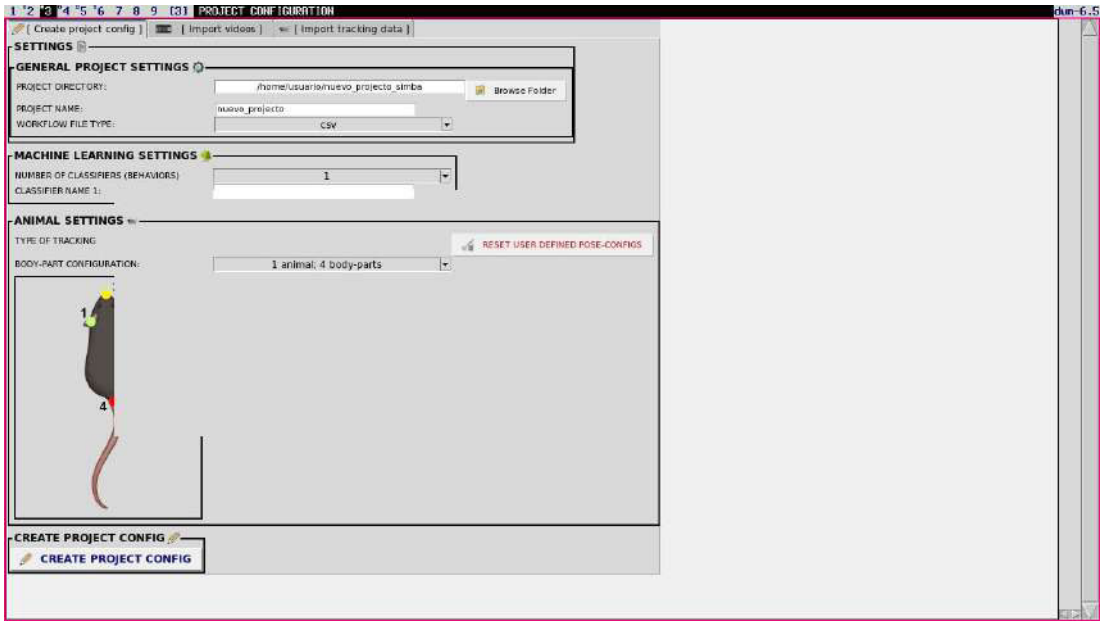
C6. PRODUCIR DATOS PROCESADOS FINALES

1. Creación del proyecto

Al iniciar SimBA se presenta la pantalla de bienvenida, que indica la versión empleada, la 3.6.7. Desde el menú superior se accede a la creación de un nuevo proyecto.

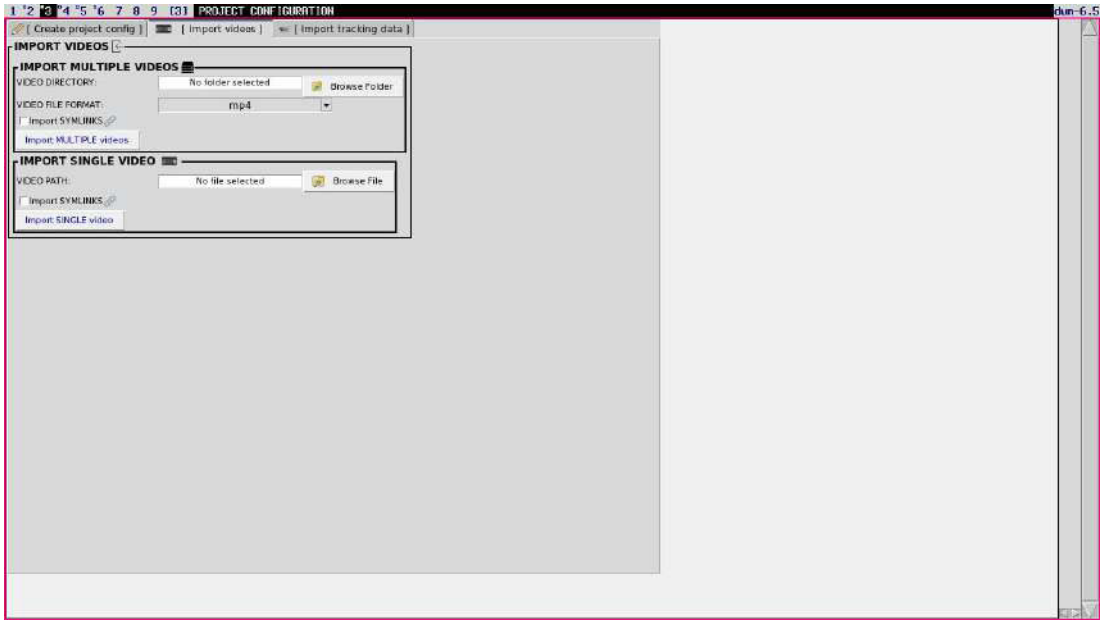


En la pestaña de configuración del proyecto se indican la carpeta y el nombre del proyecto, se escoge el formato de trabajo en archivos de valores separados por comas y, en los ajustes del animal, se selecciona el seguimiento clásico de un solo animal. El esquema del ratón, con sus puntos corporales numerados, confirma la configuración elegida. Un único clasificador figura de forma nominal, ya que el programa lo exige, pero no se entrenó ni utilizó.

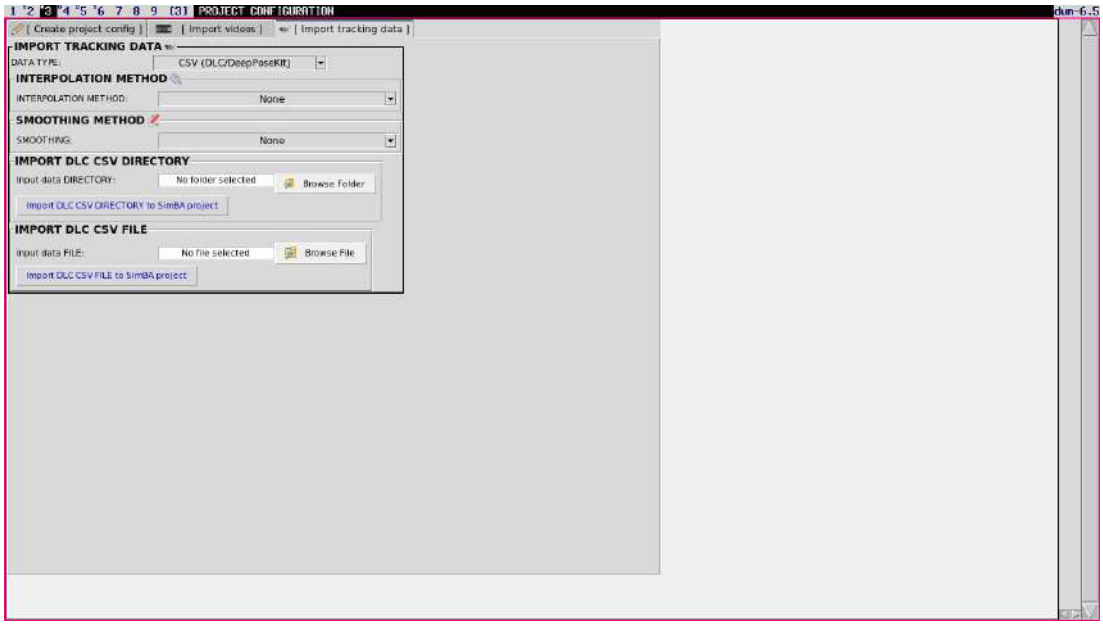


2. Importación de los videos y de las trayectorias

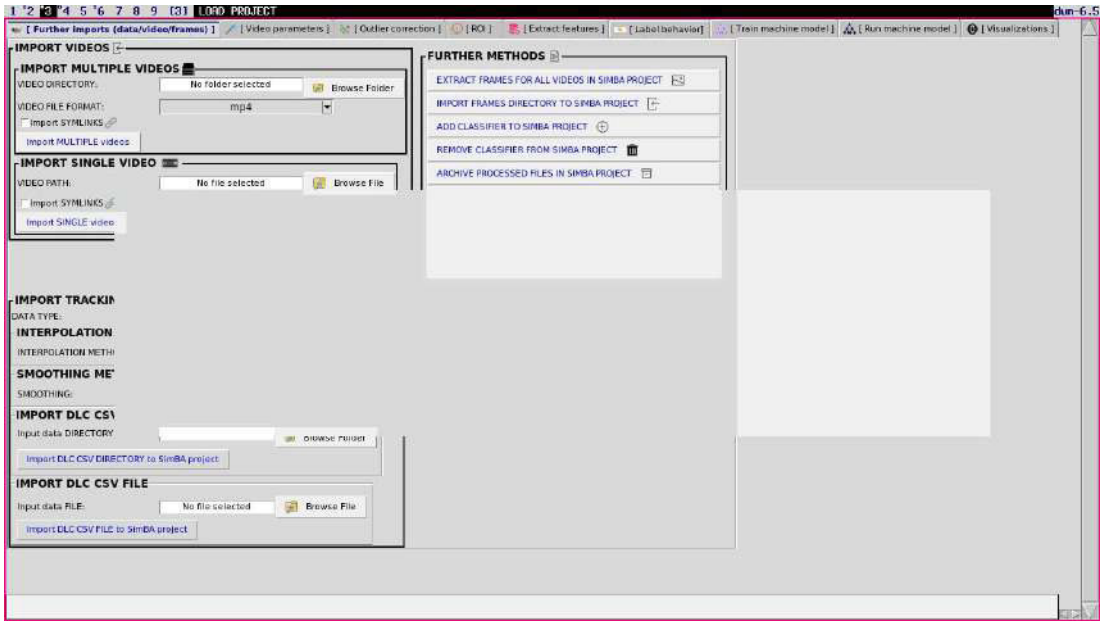
Creado el proyecto, se incorporan los videos originales, que sirven de referencia visual para situar las regiones de interés y para calibrar la escala espacial.



A continuación se importan las trayectorias. Como tipo de dato se elige el formato de DeepLabCut, y de manera deliberada tanto la interpolación como el suavizado se dejan desactivados, pues las coordenadas ya habían sido depuradas en la etapa previa con DLCAnalyzer y no requerían un nuevo tratamiento.

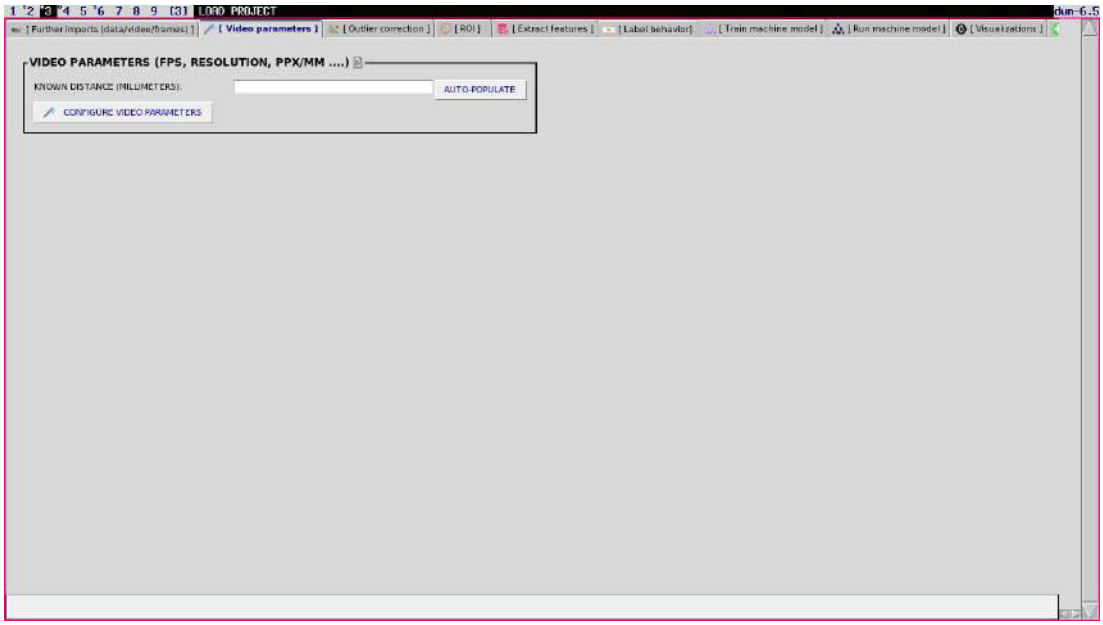


Una vez cargado, el proyecto se abre desde la pestaña de gestión, que reúne las importaciones adicionales de videos, cuadros y clasificadores. Desde aquí se accede a las sucesivas etapas del análisis mediante las pestañas de la parte superior.

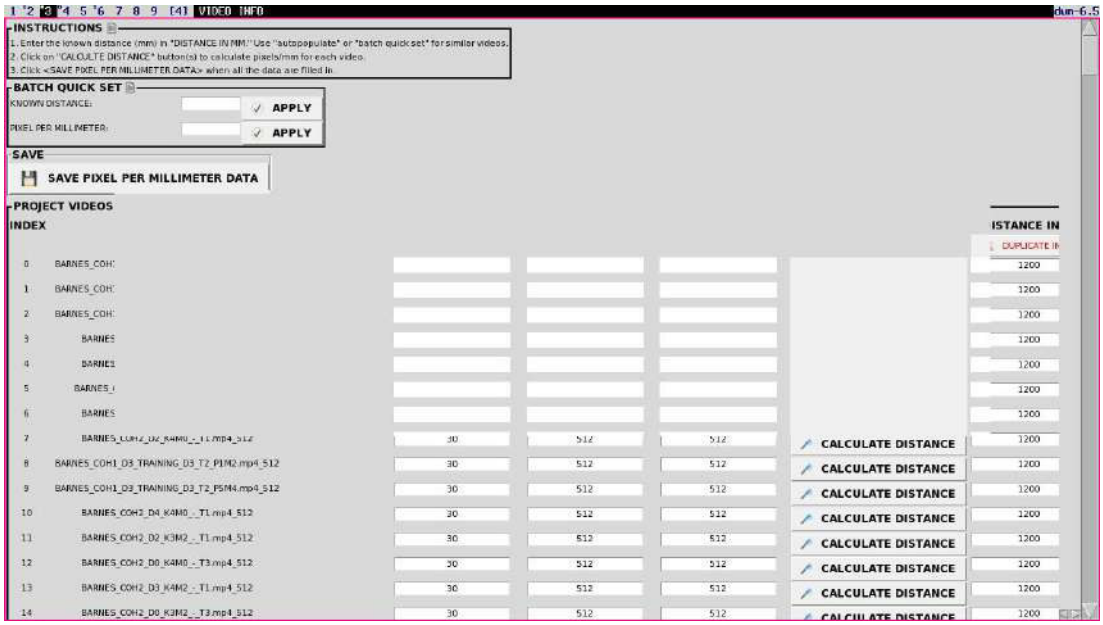


3. Definición de la escala espacial

Para que las distancias y velocidades se expresen en unidades reales y no en píxeles, SimBA necesita conocer la correspondencia entre ambos. En la pestaña de parámetros del video se introduce una distancia conocida del aparato y el programa deduce los píxeles por milímetro.



La tabla de videos del proyecto reúne, para cada grabación, la frecuencia de treinta cuadros por segundo, la resolución de 512 por 512 píxeles y la distancia conocida de referencia. Un conjunto de campos de aplicación rápida permite fijar el mismo valor para todos los videos a la vez.

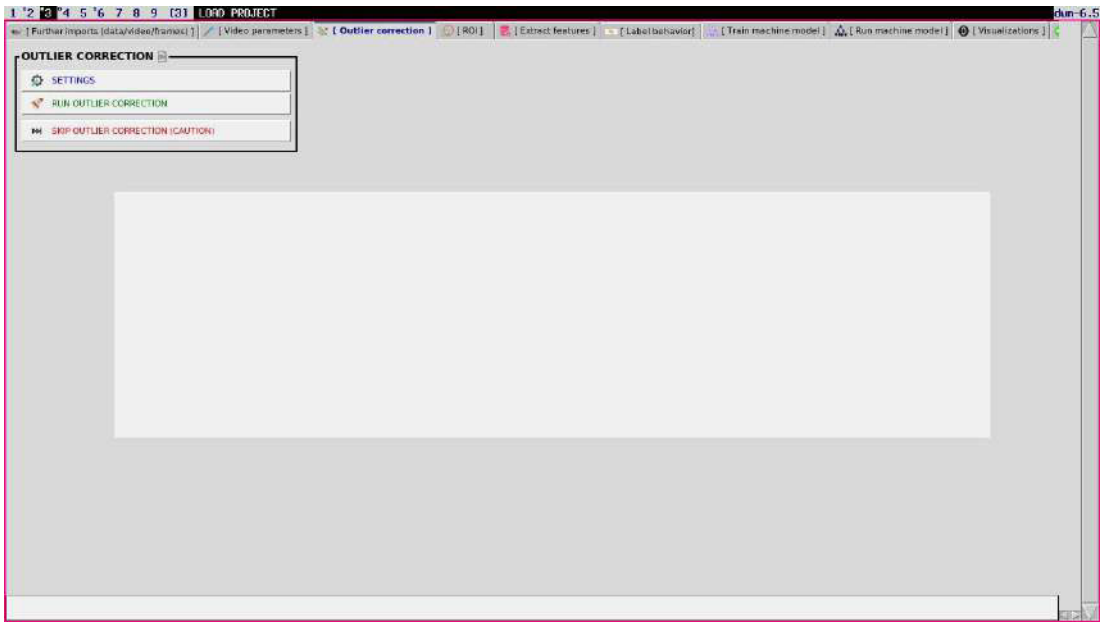


El valor de la escala se obtiene trazando, sobre un cuadro del video, una línea que une dos puntos cuya separación real se conoce. La imagen corresponde a la plataforma circular del laberinto de Barnes, sobre la que se marca la distancia de referencia.



4. Corrección de valores atípicos

Antes de los análisis, SimBA ofrece una etapa de corrección de valores atípicos de posición, que puede ejecutarse u omitirse. Dado que las trayectorias ya habían sido limpiadas en la etapa anterior, esta pantalla se atraviesa sin introducir un procesamiento adicional relevante.

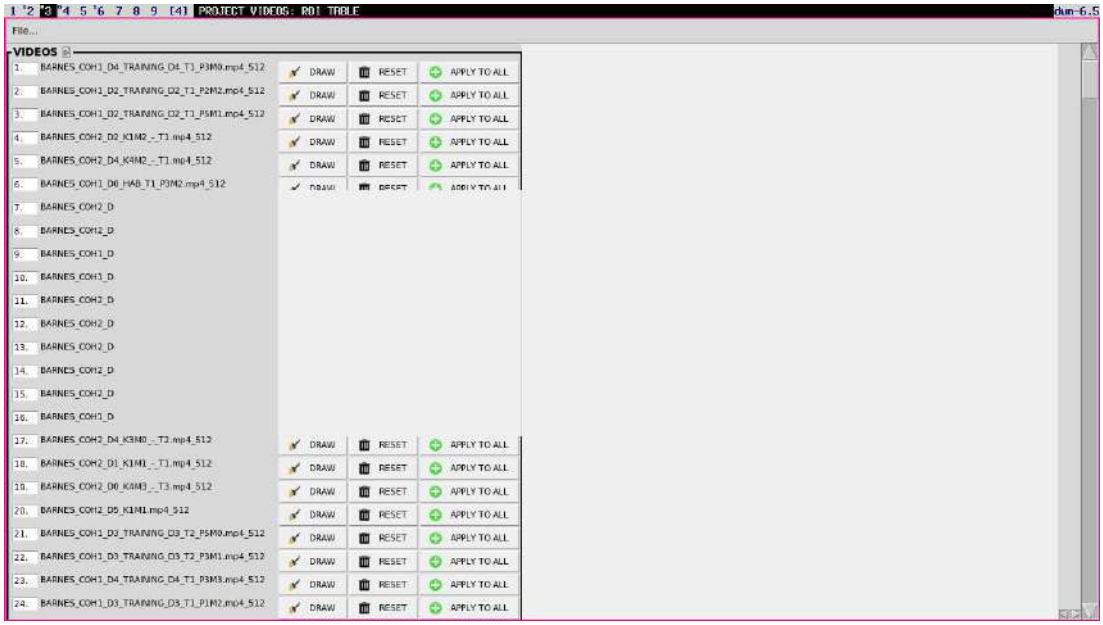


5. Definición de las regiones de interés

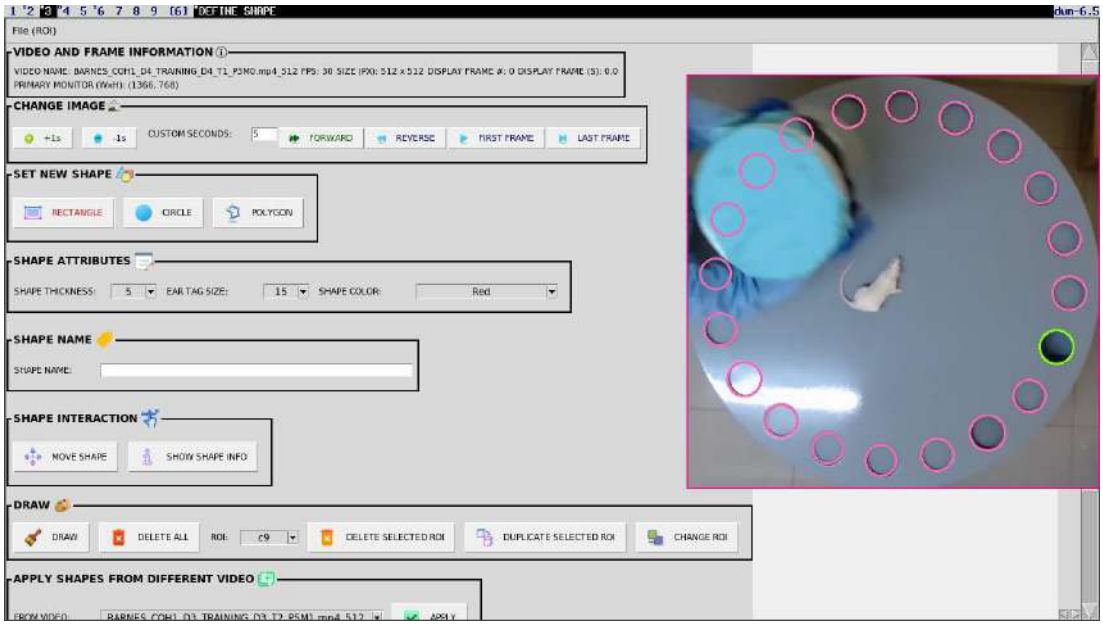
El elemento central de este análisis son las regiones de interés, que delimitan las zonas del aparato cuya ocupación se desea cuantificar. La pestaña correspondiente organiza la definición de las regiones, su análisis y su visualización.



La definición se realiza video por video. La tabla del proyecto ofrece, para cada grabación, las opciones de dibujar las regiones, reiniciarlas o replicarlas en todos los videos.



Sobre el cuadro del video se dibujan las regiones con las herramientas de rectángulo, círculo o polígono. En el laberinto de Barnes cada orificio de la plataforma se rodea con un círculo, y la región correspondiente al agujero de escape se distingue del resto. Estas regiones son las que después permiten medir el tiempo de permanencia y el número de entradas.



6. Estadísticas agregadas de las regiones de interés

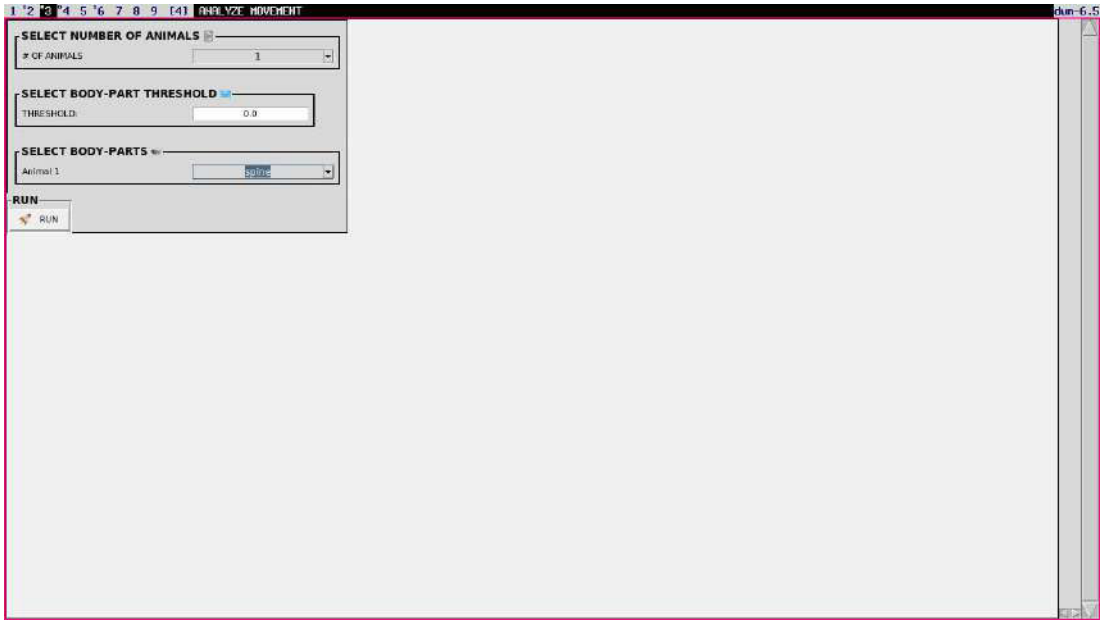
Con las regiones definidas se ejecuta el primero de los dos análisis. La ventana de estadísticas agregadas permite elegir el número de animales, el umbral de probabilidad y el punto corporal de referencia; se seleccionó el hocico, apropiado para registrar la aproximación a los orificios. Entre las medidas se activaron el tiempo total de permanencia en cada región y el número de entradas. El umbral de probabilidad se mantuvo en cero, pues las coordenadas ya estaban depuradas. Ejecutar con el botón RUN.



7. Análisis de movimiento para velocidad y distancia

El segundo análisis cuantifica la locomoción del animal. En su ventana se indican el número de animales y el punto corporal que se toma como referencia

del desplazamiento; se escogió la columna, representativa del centro del cuerpo. Al ejecutarlo, SimBA calcula la distancia total recorrida y la velocidad de movimiento a partir de la escala definida previamente. Ejecutar con el botón RUN.



Los dos análisis producen, para cada video, tablas de resultados en formato de valores separados por comas: por un lado, el tiempo de permanencia y el número de entradas en cada región de interés; por otro, la distancia recorrida y la velocidad media. Estas medidas constituyen la salida final de todo el proceso y son las que sustentan la comparación entre los grupos experimentales en el laberinto de Barnes y en la prueba de reconocimiento de objeto novedoso.

APÉNDICE D

VERIFICACIÓN DE SUPUESTOS ESTADÍSTICOS

Este apéndice documenta la verificación de los supuestos exigidos por las pruebas paramétricas clásicas (t de Student, ANOVA y ANOVA de medidas repetidas). Al no cumplirse estos supuestos, las pruebas paramétricas clásicas no son apropiadas, y en particular el ANOVA de medidas repetidas (la prueba del laberinto de Barnes se trata de un diseño de medidas repetidas) queda descartado por la violación de la esfericidad.

Para cada variable dependiente se evaluó normalidad (prueba de Shapiro-Wilk sobre los residuos del modelo lineal que emplearía el ANOVA correspondiente (en el laberinto de Barnes, el modelo grupo * día * ensayo), complementada con la inspección de gráficos Q-Q y de la distribución de los residuos), homocedasticidad (prueba de Levene centrada en la mediana entre grupos) y esfericidad (prueba de Mauchly sobre el factor intra-sujeto día del laberinto de Barnes, supuesto indispensable del ANOVA de medidas repetidas; se reporta además el factor de corrección épsilon de Greenhouse-Geisser). Estos resultados se consolidan en la siguiente tabla:

Tabla D1

Normalidad (Shapiro-Wilk sobre residuos) y homocedasticidad (Levene)

Variable	Shapiro W	p (normalidad)	Violación de supuesto	Levene F	p (homoced.)	Violación de supuesto
NOR: índice de reconocimiento	0.956	0.221	No	0.106	0.956	No
NOR: distancia	0.888	0.0037	Sí	1.075	0.376	No
NOR: velocidad	0.888	0.0037	Sí	1.075	0.376	No
Barnes: latencia	0.628	6.8*10e-23	Sí	0.590	0.622	No
Barnes: errores	0.986	0.014	Sí	4.549	0.0040	Sí
Barnes: distancia	0.791	1.6*10e-17	Sí	1.747	0.158	No
Barnes:	0.992	0.162	No	2.243	0.084	No

Variable	Shapiro W	p (normalidad)	Violación de supuesto	Levene F	p (homoced.)	Violación de supuesto
velocidad						

Tabla D2

Esfericidad (Mauchly) del factor intra-sujeto "día" (Barnes)

Variable	Mauchly W	p	ε (Greenhouse-Geisser)	Violación de supuesto
Barnes: latencia	0.103	2.6*10e-11	0.52	Sí
Barnes: errores	0.689	0.088	0.82	No
Barnes: distancia	0.363	8.7*10e-5	0.72	Sí
Barnes: velocidad	0.717	0.128	0.85	No

La normalidad se violó en 5 de 7 variables (distancia y velocidad del NOR; latencia, errores y distancia del Barnes). La homocedasticidad se violó en los errores del Barnes. La esfericidad se violó en la latencia y la distancia del Barnes, de forma marcada en la latencia (ε = 0.52, muy alejado de 1). Los gráficos Q-Q (Figura A1) y la distribución de los residuos (Figura A2) confirman visualmente estas desviaciones, especialmente la fuerte asimetría a la derecha de la latencia y la distancia.

Figura D1

Gráficos Q-Q de normalidad de los residuos

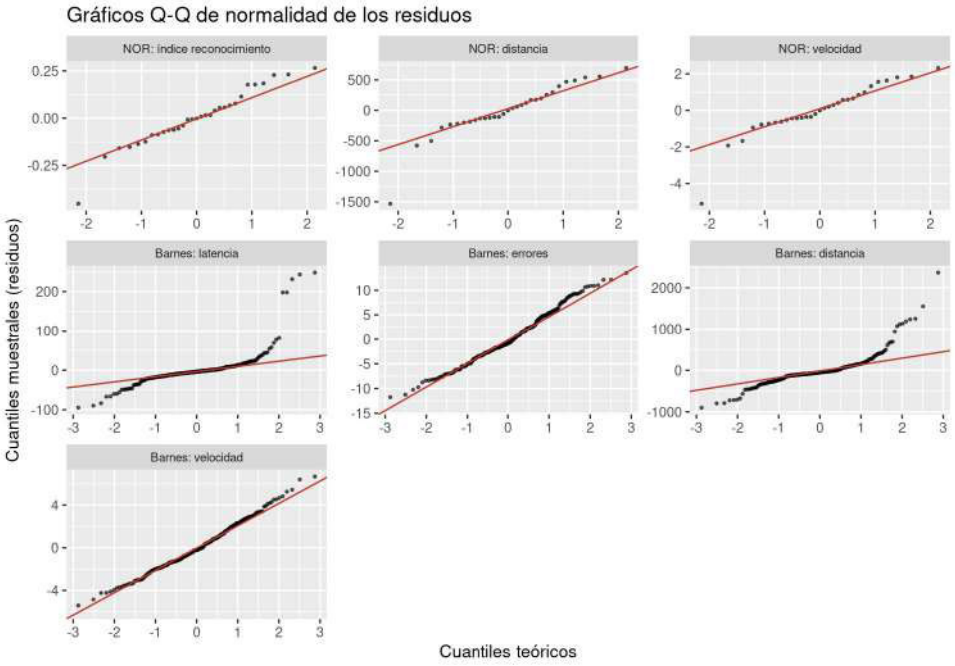
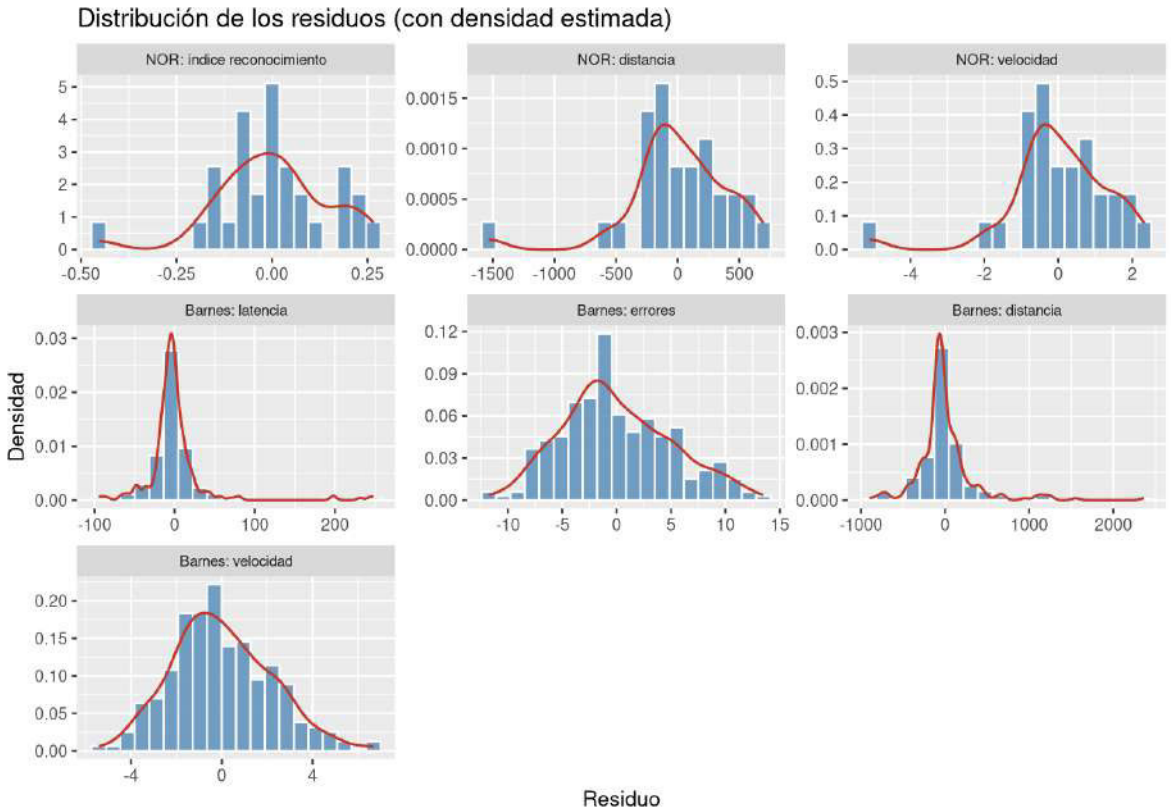


Figura D2

Distribución de los residuos (histograma y densidad estimada)



En conjunto, los supuestos de normalidad, homocedasticidad y esfericidad no se cumplen para la mayoría de las variables. Por ello se descartaron la t de Student, el ANOVA y el ANOVA de medidas repetidas, y se optó por modelos con familias de distribución adecuadas a cada variable, ajustados tanto en un marco bayesiano (cuerpo principal del análisis) como en un marco frecuentista de modelos lineales generalizados y generalizados mixtos (Apéndice B de análisis complementario frecuentista).

APÉNDICE E

ANÁLISIS COMPLEMENTARIO BAJO EL MARCO FRECUENTISTA

Este apéndice documenta un análisis frecuentista complementario, basado en modelos lineales generalizados (GLM) y generalizados mixtos (GLMM) que podría verse como la contraparte de máxima verosimilitud de los modelos bayesianos del cuerpo principal de la tesis, cuyo propósito es comprobar que las conclusiones del estudio no dependen del paradigma de inferencia.

La verificación de los supuestos que justifica el uso de estos modelos (en lugar de la t de Student, el ANOVA o el ANOVA de medidas repetidas) es común a ambos marcos de análisis (bayesiano y frecuentista, y se documenta por separado en el Apéndice A. Se ajustaron entonces modelos generalizados con las mismas familias que los modelos bayesianos, estimados por máxima verosimilitud: GLM Beta (índice de reconocimiento), GLM Gamma con enlace logarítmico (distancia y velocidad del NOR), GLMM Gamma (latencia, distancia y velocidad del laberinto de Barnes, con efectos aleatorios por sujeto), GLMM binomial negativa (errores) y un modelo de riesgos proporcionales de Cox (kindling). El efecto del grupo se evaluó mediante una prueba de razón de verosimilitud (LRT) entre el modelo sin el factor grupo (M0) y el modelo con él (M1), de manera análoga a la comparación de modelos del análisis bayesiano. En el laberinto de Barnes, el día se incluyó como covariable continua de aprendizaje y el ensayo dentro del día como efecto fijo adicional. La formulación de cada modelo, en notación de Wilkinson, se resume en la Tabla E1.

Tabla E1

Modelos frecuentistas (notación de Wilkinson)

Variable dependiente	Familia (enlace)	Modelo nulo (M0)	Modelo alternativo (M1)
Prueba de kindling (PTZ)			
Latencia al kindling	Cox (riesgos prop.)	Surv(tiempo, evento) ~ 1	Surv(tiempo, evento) ~ grupo
Prueba NOR			
Índice de reconocimiento	Beta (logit)	indice_recog ~ 1	indice_recog ~ grupo
Distancia total recorrida	Gamma (log)	dist ~ 1	dist ~ grupo
Velocidad media	Gamma (log)	vel ~ 1	vel ~ grupo
Prueba del laberinto de Barnes			
Latencia	Gamma (log)	lat ~ dia + intento + (1 + dia | id)	lat ~ grupo * dia + intento + (1 + dia | id)
Errores	Binomial negativa	err ~ dia + intento +	err ~ grupo * dia +

Variable dependiente	Familia (enlace)	Modelo nulo (M0)	Modelo alternativo (M1)
	(log)	(1 + dia | id)	intento + (1 + dia | id)
Distancia total recorrida	Gamma (log)	dist ~ dia + intento + (1 + dia | id)	dist ~ grupo * dia + intento + (1 + dia | id)
Velocidad media	Gamma (log)	vel ~ dia + intento + (1 + dia | id)	vel ~ grupo * dia + intento + (1 + dia | id)

Nota. “dia" es covariable continua centrada; intento, el ensayo (1/2) dentro del día; “id", el sujeto. El efecto del grupo se contrasta por razón de verosimilitud entre M0 y M1. En la latencia del laberinto, la pendiente aleatoria se redujo a (1 | id) por convergencia.

Tabla E2

Efecto del grupo (LRT) en la prueba NOR

Variable	Modelo	Estadístico (χ^2)	gl	p
Índice de reconocimiento	GLM Beta	7.10	3	0.069
Distancia	GLM Gamma	-	3	0.265
Velocidad	GLM Gamma	-	3	0.264

Tabla E3

Índice de reconocimiento frente al azar (0.5): t de una muestra por grupo

Grupo	Media	t	gl	p
VEH+Sal	0.566	1.20	7	0.270
MCH02+Sal	0.636	2.85	7	**0.025**
VEH+PTZ	0.467	−0.42	6	0.692
MCH02+PTZ	0.628	2.91	7	**0.023**

Tabla E4

Efecto del grupo en el laberinto de Barnes (GLMM; LRT)

Variable	Modelo	p (grupo, global)	p (grupo * día)
Latencia	GLMM Gamma	0.355	0.308
Errores	GLMM binomial negativa	0.142	0.234

Variable	Modelo	p (grupo, global)	p (grupo * día)
Distancia	GLMM Gamma	0.127	0.604
Velocidad	GLMM Gamma	0.603	0.668

Tabla E5

Kindling: modelo de Cox de riesgos proporcionales

Contraste	HR	IC 95%	p (Wald)	p (LRT)	p (log-rank)
MCH02+PTZ vs VEH+PTZ	2.73	[0.80, 9.34]	0.11	0.097	0.114

Para ilustrar los modelos ajustados, la Figura B1 muestra las medias marginales estimadas por grupo en la prueba NOR, con sus intervalos de confianza del 95%; el grupo VEH+PTZ es el único cuyo índice de reconocimiento se sitúa por debajo del azar, mientras que las distancias y velocidades estimadas no difieren entre grupos. La Figura B2 presenta las curvas de aprendizaje predichas por los GLMM del laberinto de Barnes (latencia y errores) a lo largo de los días, con bandas de confianza del 95%; las trayectorias de los grupos son aproximadamente paralelas, en consonancia con la ausencia de interacción grupo * día. La Figura B3 muestra el diagnóstico de residuos simulados (DHARMa) de los cuatro GLMM del laberinto: el ajuste es adecuado para la distancia y la velocidad, con una desviación leve en la latencia y los errores (atribuible, en el caso de la latencia, a que el GLMM frecuentista no modela la censura del techo de 300 s).

Figura E1

Medias marginales estimadas por grupo en la prueba NOR (GLM Beta y Gamma)

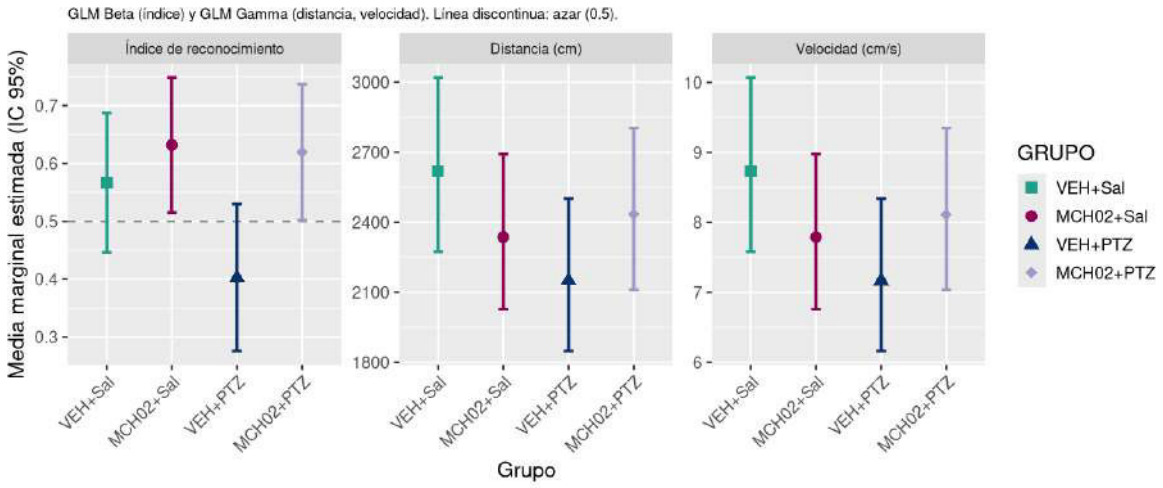


Figura E2

Curvas de aprendizaje predichas por los GLMM del laberinto de Barnes

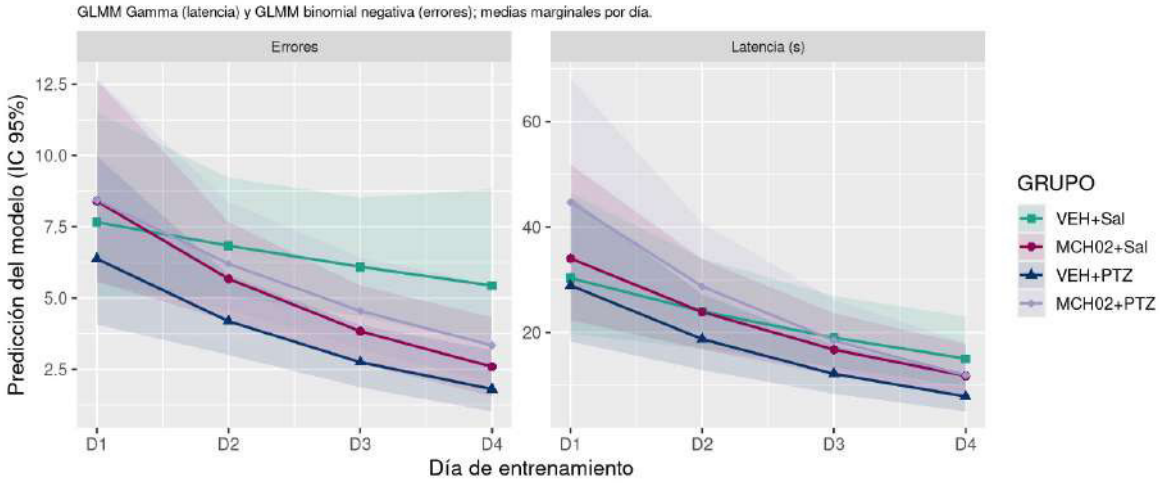
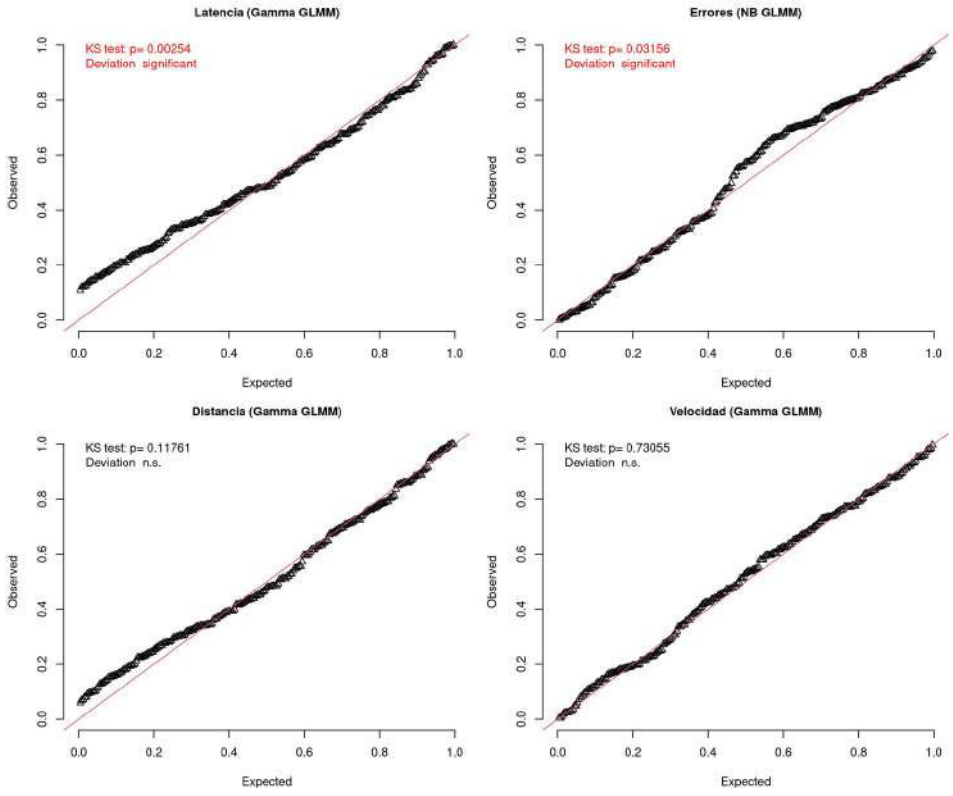


Figura E3

Diagnóstico de residuos simulados (DHARMa) de los GLMM del laberinto de Barnes



Como se puede apreciar, las conclusiones del complemento frecuentista coinciden con las del análisis bayesiano del cuerpo principal:

El modelo de Cox estima un riesgo de kindling mayor en el grupo tratado (HR = 2.73), es decir, una tendencia a kindlear antes, pero el intervalo de confianza incluye 1 y la prueba no es significativa (p = 0.11), en línea con el factor de aceleración bayesiano (0.79; HPD que incluye la ausencia de efecto). No hay evidencia concluyente de que la macamida modifique la velocidad de adquisición del kindling.

En el caso del NOR no se detecta un efecto global del grupo sobre el índice de reconocimiento (p = 0.069), pero (de manera consistente con la estimación bayesiana) solo los grupos tratados con macamida superan creíble/significativamente el azar (p = 0.025 y 0.023), mientras que el grupo VEH+PTZ no lo hace (y su media se sitúa por debajo de 0.5). No hay diferencias de locomoción entre grupos (p = 0.26 para distancia y velocidad).

Finalmente en el caso del laberinto de Barnes. Ningún efecto del grupo (ni global ni en interacción con el día) alcanza significación para la latencia, los errores, la distancia o la velocidad (todos p > 0.12), coincidiendo con la ausencia de diferencias creíbles en la tasa de aprendizaje del análisis bayesiano.

En síntesis, la inferencia frecuentista por máxima verosimilitud reproduce las mismas conclusiones que la inferencia bayesiana, de modo que los resultados del estudio son robustos al paradigma estadístico empleado.

Como observación se puede acotar que en el GLMM de la latencia, la estructura de efectos aleatorios se redujo a intercepto por sujeto por problemas de convergencia con la pendiente aleatoria; las demás variables del laberinto admitieron intercepto y pendiente aleatorios. A diferencia del modelo bayesiano, el GLMM frecuentista no incorpora censura, por lo que las latencias en el techo (300 s) se tratan como observadas; la conclusión (ausencia de efecto de grupo) no se ve afectada.

APÉNDICE F

SALIDA DE LOS AJUSTES DE LOS MODELOS

Este anexo reúne las salidas crudas del ajuste de cada modelo estadístico reportado en el estudio (bayesianos y frecuentistas), como evidencia de reproducibilidad. Para cada modelo se indica qué se ajusta (encabezado), el entorno de cómputo (paquetes y versión de R) y la salida textual del resumen.

G1. Entorno de cómputo (Salida del comando sessionInfo() de R)

```
R version 4.5.0 (2025-04-11)
Platform: x86_64-pc-linux-gnu
Running under: Debian GNU/Linux 13 (trixie)

Matrix products: default
BLAS:   /usr/lib/x86_64-linux-gnu/openblas-pthread/libblas.so.3
LAPACK: /usr/lib/x86_64-linux-gnu/openblas-pthread/libopenblasp-r0.3.29.so;  LAPACK version 3.12.0

locale:
 [1] LC_CTYPE=en_US.UTF-8       LC_NUMERIC=C
 [3] LC_TIME=en_US.UTF-8        LC_COLLATE=en_US.UTF-8
 [5] LC_MONETARY=en_US.UTF-8    LC_MESSAGES=en_US.UTF-8
 [7] LC_PAPER=en_US.UTF-8       LC_NAME=C
 [9] LC_ADDRESS=C               LC_TELEPHONE=C
[11] LC_MEASUREMENT=en_US.UTF-8 LC_IDENTIFICATION=C

time zone: America/Lima
tzcode source: system (glibc)

attached base packages:
[1] stats     graphics  grDevices utils     datasets  methods   base

other attached packages:
 [1] readxl_1.5.0   survival_3.8-3 car_3.1-5      carData_3.0-6  lme4_2.0-1
 [6] Matrix_1.7-3   betareg_3.2-4  tidyr_1.3.2    dplyr_1.2.1    brms_2.23.0
[11] Rcpp_1.1.1-1.1

loaded via a namespace (and not attached):
 [1] gtable_0.3.6          tensorA_0.36.2.1      QuickJSR_1.10.0
 [4] ggplot2_4.0.3         inline_0.3.21         lattice_0.22-7
 [7] vctrs_0.7.3           tools_4.5.0           Rdpack_2.6.6
[10] generics_0.1.4        stats4_4.5.0          parallel_4.5.0
[13] flexmix_2.3-20        sandwich_3.1-1        tibble_3.3.1
[16] pkgconfig_2.0.3       DHARMa_0.5.0          checkmate_2.3.4
[19] RColorBrewer_1.1-3    S7_0.2.2              distributional_0.8.0
[22] RcppParallel_5.1.11-2 lifecycle_1.0.5       compiler_4.5.0
[25] farver_2.1.2          stringr_1.6.0         Brobdingnag_1.2-9
[28] codetools_0.2-20      bayesplot_1.15.0      Formula_1.2-5
[31] pillar_1.11.1         nloptr_2.2.1          MASS_7.3-65
[34] StanHeaders_2.32.10   reformulas_0.4.4      bridgesampling_1.2-1
[37] boot_1.3-31           abind_1.4-8           multcomp_1.4-30
[40] nlme_3.1-168          rstan_2.32.7          posterior_1.7.0
[43] tidyselect_1.2.1      mvtnorm_1.3-7         stringi_1.8.7
[46] reshape2_1.4.5        purrr_1.2.2           splines_4.5.0
[49] grid_4.5.0            cli_3.6.6             magrittr_2.0.5
[52] loo_2.9.0             pkgbuild_1.4.8        TH.data_1.1-5
[55] scales_1.4.0          backports_1.5.1       estimability_2.0.0
[58] emmeans_2.0.3         matrixStats_1.5.0     nnet_7.3-20
[61] gridExtra_2.3         cellranger_1.1.0      zoo_1.8-15
[64] modeltools_0.2-24     coda_0.19-4.1         rbibutils_2.4.1
[67] lmtest_0.9-40         rstantools_2.6.0      rlang_1.2.0
[70] xtable_1.8-8          glue_1.8.1            minqa_1.2.8
[73] plyr_1.8.9            R6_2.6.1
```

G2. Modelos bayesianos (brms / Stan)

G2.1. Kindling — Latencia al kindling (AFT lognormal, censurado)

Modelo: tiempo | cens ~ grupo

Entorno: brms 2.23.0 -rstan 2.32.7 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
 Family: lognormal
  Links: mu = identity
Formula: time | cens(censored) ~ grupo
   Data: data (Number of observations: 15)
  Draws: 4 chains, each with iter = 8000; warmup = 2000; thin = 1;
         total post-warmup draws = 24000

Regression Coefficients:
              Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS Tail_ESS
Intercept         1.75      0.15     1.46     2.03 1.00    13660    11965
grupoMCH02PPTZ   -0.23      0.19    -0.61     0.16 1.00    14572    13064

Further Distributional Parameters:
      Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS Tail_ESS
sigma     0.40      0.09     0.27     0.61 1.00    11591    10514

Draws were sampled using sampling(NUTS). For each parameter, Bulk_ESS
and Tail_ESS are effective sample size measures, and Rhat is the potential
scale reduction factor on split chains (at convergence, Rhat = 1).
```

G2.2. NOR — Índice de reconocimiento (Beta)

Modelo: indice_recog ~ grupo

Entorno: brms 2.23.0 -rstan 2.32.7 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
 Family: beta
  Links: mu = logit
Formula: y ~ 0 + grupo
   Data: data (Number of observations: 31)
  Draws: 4 chains, each with iter = 8000; warmup = 2000; thin = 1;
         total post-warmup draws = 24000

Regression Coefficients:
              Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS Tail_ESS
grupoVEHPSal      0.26      0.26    -0.25     0.78 1.00    24306    16555
grupoMCH02PSal    0.53      0.27     0.01     1.05 1.00    24560    15156
grupoVEHPPTZ     -0.39      0.28    -0.94     0.17 1.00    24953    15536
grupoMCH02PPTZ    0.48      0.26    -0.03     1.01 1.00    24614    15557

Further Distributional Parameters:
    Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS Tail_ESS
phi     6.86      1.59     4.12    10.33 1.00    21068    15959

Draws were sampled using sampling(NUTS). For each parameter, Bulk_ESS
and Tail_ESS are effective sample size measures, and Rhat is the potential
scale reduction factor on split chains (at convergence, Rhat = 1).
```

G2.3. NOR — Distancia total (Gamma, log)

Modelo: dist ~ grupo

Entorno: brms 2.23.0 -rstan 2.32.7 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
 Family: gamma
  Links: mu = log
Formula: dist ~ grupo
   Data: data (Number of observations: 31)
  Draws: 4 chains, each with iter = 8000; warmup = 2000; thin = 1;
         total post-warmup draws = 24000

Regression Coefficients:
              Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS Tail_ESS
```

```
Intercept          7.87      0.09     7.71     8.04 1.00    10184    11800
grupoMCH02PSal    -0.11      0.12    -0.35     0.13 1.00    11200    14586
grupoVEHPPTZ      -0.19      0.13    -0.44     0.05 1.00    11445    13414
grupoMCH02PPTZ    -0.07      0.12    -0.31     0.17 1.00    11806    14019

Further Distributional Parameters:
      Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS Tail_ESS
shape    17.74      4.45    10.15    27.34 1.00    12827    13757

Draws were sampled using sampling(NUTS). For each parameter, Bulk_ESS
and Tail_ESS are effective sample size measures, and Rhat is the potential
scale reduction factor on split chains (at convergence, Rhat = 1).
```

G2.4. NOR — Velocidad media (Gamma, log)

Modelo: vel ~ grupo

Entorno: brms 2.23.0 -rstan 2.32.7 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
 Family: gamma
  Links: mu = log
Formula: vel ~ grupo
   Data: data (Number of observations: 31)
  Draws: 4 chains, each with iter = 8000; warmup = 2000; thin = 1;
         total post-warmup draws = 24000

Regression Coefficients:
              Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS Tail_ESS
Intercept         2.17      0.08     2.00     2.34 1.00    10314    12319
grupoMCH02PSal   -0.11      0.12    -0.35     0.13 1.00    11709    13321
grupoVEHPPTZ     -0.19      0.12    -0.43     0.06 1.00    12528    14505
grupoMCH02PPTZ   -0.07      0.12    -0.31     0.17 1.00    11831    14755

Further Distributional Parameters:
      Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS Tail_ESS
shape    17.75      4.49    10.16    27.59 1.00    14571    14790

Draws were sampled using sampling(NUTS). For each parameter, Bulk_ESS
and Tail_ESS are effective sample size measures, and Rhat is the potential
scale reduction factor on split chains (at convergence, Rhat = 1).
```

G2.5. Barnes — Latencia (Gamma, log; censurada)

Modelo: lat | cens ~ grupo*dia + intento + (1+dia|id)

Entorno: brms 2.23.0 -rstan 2.32.7 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
 Family: gamma
  Links: mu = log
Formula: lat | cens(censored) ~ grupo * day_c + intento + (1 + day_c | id)
   Data: data (Number of observations: 248)
  Draws: 4 chains, each with iter = 14000; warmup = 2000; thin = 1;
         total post-warmup draws = 48000

Multilevel Hyperparameters:
~id (Number of levels: 31)
                    Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS
sd(Intercept)           0.38      0.08     0.24     0.57 1.00    22074
sd(day_c)               0.33      0.07     0.21     0.48 1.00    24931
cor(Intercept,day_c)   -0.50      0.22    -0.85    -0.02 1.00    18987
                    Tail_ESS
sd(Intercept)          33026
sd(day_c)              33733
cor(Intercept,day_c)   26987

Regression Coefficients:
                    Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS
Intercept               3.29      0.17     2.96     3.63 1.00    23995
grupoMCH02PSal         -0.09      0.23    -0.54     0.36 1.00    24297
grupoVEHPPTZ           -0.40      0.24    -0.86     0.07 1.00    24661
grupoMCH02PPTZ          0.10      0.23    -0.35     0.55 1.00    24776
day_c                  -0.21      0.14    -0.48     0.07 1.00    21708
```

```
intento2                -0.45      0.10    -0.65    -0.25 1.00    85313
grupoMCH02PSal:day_c    -0.12      0.20    -0.51     0.27 1.00    25176
grupoVEHPPTZ:day_c      -0.23      0.20    -0.63     0.18 1.00    24190
grupoMCH02PPTZ:day_c    -0.22      0.20    -0.62     0.17 1.00    24506
                     Tail_ESS
Intercept               31316
grupoMCH02PSal          32180
grupoVEHPPTZ            32958
grupoMCH02PPTZ          32659
day_c                   29205
intento2                35787
grupoMCH02PSal:day_c    31177
grupoVEHPPTZ:day_c      30418
grupoMCH02PPTZ:day_c    31772

Further Distributional Parameters:
      Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS Tail_ESS
shape     1.83      0.17     1.52     2.18 1.00    54026    35119

Draws were sampled using sampling(NUTS). For each parameter, Bulk_ESS
and Tail_ESS are effective sample size measures, and Rhat is the potential
scale reduction factor on split chains (at convergence, Rhat = 1).
```

G2.6. Barnes - Errores (binomial negativa)

Modelo: err ~ grupo*dia + intento + (1+dia|id)

Entorno: brms 2.23.0 -rstan 2.32.7 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
 Family: negbinomial
  Links: mu = log
Formula: err ~ grupo * day_c + intento + (1 + day_c | id)
   Data: data (Number of observations: 248)
  Draws: 4 chains, each with iter = 14000; warmup = 2000; thin = 1;
         total post-warmup draws = 48000

Multilevel Hyperparameters:
~id (Number of levels: 31)
                     Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS
sd(Intercept)            0.31      0.12     0.05     0.56 1.00    10850
sd(day_c)                0.11      0.08     0.01     0.30 1.00    18468
cor(Intercept,day_c)     0.15      0.43    -0.72     0.86 1.00    45477
                     Tail_ESS
sd(Intercept)           10632
sd(day_c)               25154
cor(Intercept,day_c)    35628

Regression Coefficients:
                     Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS
Intercept                2.07      0.18     1.71     2.41 1.00    32151
grupoMCH02PSal          -0.29      0.24    -0.75     0.18 1.00    34464
grupoVEHPPTZ            -0.60      0.25    -1.08    -0.09 1.00    34047
grupoMCH02PPTZ          -0.15      0.24    -0.62     0.32 1.00    34572
day_c                   -0.11      0.12    -0.34     0.12 1.00    27512
intento2                -0.43      0.13    -0.69    -0.16 1.00    88432
grupoMCH02PSal:day_c    -0.26      0.17    -0.59     0.07 1.00    32392
grupoVEHPPTZ:day_c      -0.28      0.18    -0.64     0.07 1.00    35510
grupoMCH02PPTZ:day_c    -0.19      0.17    -0.52     0.14 1.00    33146
                     Tail_ESS
Intercept               30817
grupoMCH02PSal          34202
grupoVEHPPTZ            34044
grupoMCH02PPTZ          34918
day_c                   32297
intento2                35658
grupoMCH02PSal:day_c    35932
grupoVEHPPTZ:day_c      35605
grupoMCH02PPTZ:day_c    35633

Further Distributional Parameters:
      Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS Tail_ESS
shape     1.21      0.17     0.92     1.58 1.00    34215    35918
```

```
Draws were sampled using sampling(NUTS). For each parameter, Bulk_ESS
and Tail_ESS are effective sample size measures, and Rhat is the potential
scale reduction factor on split chains (at convergence, Rhat = 1).
```

G2.7. Barnes - Distancia total (Gamma, log)

Modelo: dist ~ grupo*dia + intento + (1+dia|id)

Entorno: brms 2.23.0 -rstan 2.32.7 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
 Family: gamma
  Links: mu = log
Formula: dist ~ grupo * day_c + intento + (1 + day_c | id)
   Data: data (Number of observations: 248)
  Draws: 4 chains, each with iter = 14000; warmup = 2000; thin = 1;
         total post-warmup draws = 48000

Multilevel Hyperparameters:
~id (Number of levels: 31)
                     Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS
sd(Intercept)            0.33      0.07     0.21     0.49 1.00    18332
sd(day_c)                0.17      0.06     0.05     0.29 1.00    13941
cor(Intercept,day_c)    -0.47      0.27    -0.89     0.16 1.00    28142
                     Tail_ESS
sd(Intercept)           26821
sd(day_c)               12807
cor(Intercept,day_c)    29879

Regression Coefficients:
                     Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS
Intercept                6.11      0.15     5.81     6.40 1.00    21767
grupoMCH02PSal          -0.21      0.20    -0.60     0.19 1.00    22019
grupoVEHPPTZ            -0.57      0.21    -0.97    -0.16 1.00    22568
grupoMCH02PPTZ          -0.17      0.20    -0.56     0.23 1.00    22494
day_c                   -0.18      0.10    -0.37     0.02 1.00    21708
intento2                -0.47      0.09    -0.64    -0.30 1.00    66175
grupoMCH02PSal:day_c    -0.17      0.13    -0.43     0.09 1.00    24400
grupoVEHPPTZ:day_c      -0.08      0.14    -0.35     0.19 1.00    25318
grupoMCH02PPTZ:day_c    -0.16      0.13    -0.43     0.10 1.00    25323
                     Tail_ESS
Intercept               29052
grupoMCH02PSal          30104
grupoVEHPPTZ            28593
grupoMCH02PPTZ          30033
day_c                   26390
intento2                36864
grupoMCH02PSal:day_c    28465
grupoVEHPPTZ:day_c      30142
grupoMCH02PPTZ:day_c    30510

Further Distributional Parameters:
      Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS Tail_ESS
shape     2.37      0.22     1.96     2.83 1.00    37061    33728

Draws were sampled using sampling(NUTS). For each parameter, Bulk_ESS
and Tail_ESS are effective sample size measures, and Rhat is the potential
scale reduction factor on split chains (at convergence, Rhat = 1).
```

G2.8. Barnes - Velocidad media (Gamma, log)

Modelo: vel ~ grupo*dia + intento + (1+dia|id)

Entorno: brms 2.23.0 -rstan 2.32.7 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
 Family: gamma
  Links: mu = log
Formula: vel ~ grupo * day_c + intento + (1 + day_c | id)
   Data: data (Number of observations: 248)
  Draws: 4 chains, each with iter = 14000; warmup = 2000; thin = 1;
         total post-warmup draws = 48000

Multilevel Hyperparameters:
```

```
~id (Number of levels: 31)
                    Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS
sd(Intercept)           0.12      0.02     0.08     0.17 1.00    17912
sd(day_c)               0.03      0.02     0.00     0.08 1.00    11301
cor(Intercept,day_c)   -0.13      0.36    -0.78     0.62 1.00    40826
                    Tail_ESS
sd(Intercept)          27334
sd(day_c)              16951
cor(Intercept,day_c)   30804

Regression Coefficients:
                    Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS
Intercept               2.34      0.05     2.24     2.45 1.00    16319
grupoMCH02PSal         -0.01      0.07    -0.15     0.13 1.00    16568
grupoVEHPPTZ           -0.12      0.07    -0.26     0.03 1.00    16574
grupoMCH02PPTZ         -0.10      0.07    -0.24     0.04 1.00    16805
day_c                   0.06      0.03     0.01     0.12 1.00    23354
intento2               -0.06      0.03    -0.11    -0.01 1.00    75408
grupoMCH02PSal:day_c   -0.05      0.04    -0.12     0.03 1.00    28482
grupoVEHPPTZ:day_c     -0.04      0.04    -0.12     0.03 1.00    29165
grupoMCH02PPTZ:day_c   -0.06      0.04    -0.13     0.02 1.00    28990
                    Tail_ESS
Intercept              25046
grupoMCH02PSal         24949
grupoVEHPPTZ           24412
grupoMCH02PPTZ         24175
day_c                  26634
intento2               34488
grupoMCH02PSal:day_c   28764
grupoVEHPPTZ:day_c     31782
grupoMCH02PPTZ:day_c   31298

Further Distributional Parameters:
      Estimate Est.Error l-95% CI u-95% CI Rhat Bulk_ESS Tail_ESS
shape    24.24      2.44    19.71    29.31 1.00    37070    34593

Draws were sampled using sampling(NUTS). For each parameter, Bulk_ESS
and Tail_ESS are effective sample size measures, and Rhat is the potential
scale reduction factor on split chains (at convergence, Rhat = 1).
```

G3. Modelos frecuentistas (GLM / GLMM / Cox)

G3.1. NOR - Índice de reconocimiento (GLM Beta): indice_recog ~ grupo

Entorno: betareg 3.2.4 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
Call:
betareg(formula = y ~ grupo, data = recog)

Quantile residuals:
    Min      1Q  Median      3Q     Max
-3.6868 -0.4514 -0.0467  0.7180  1.7738

Coefficients (mean model with logit link):
              Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)     0.2681     0.2502   1.071   0.2840
grupoMCH02+Sal  0.2727     0.3571   0.764   0.4449
grupoVEH+PTZ   -0.6630     0.3681  -1.801   0.0717 .
grupoMCH02+PTZ  0.2198     0.3562   0.617   0.5371

Phi coefficients (precision model with identity link):
      Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(phi)    7.005      1.673   4.188 2.81e-05 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Type of estimator: ML (maximum likelihood)
Log-likelihood:  11.3 on 5 Df
Pseudo R-squared:  0.17
Number of iterations: 20 (BFGS) + 2 (Fisher scoring)

# Razón de verosimilitud M0 (~1) vs M1 (~grupo):
```

```
Likelihood ratio test

Model 1: y ~ 1
Model 2: y ~ grupo
  #Df  LogLik Df  Chisq Pr(>Chisq)
1   2  7.7493
2   5 11.2988  3 7.0989    0.06881 .
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1
```

G3.2. NOR - Índice de reconocimiento frente al azar (0.5): t de una muestra por grupo

Entorno: stats -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
      grupo     media         t gl          p
1   VEH+Sal 0.5664299  1.199125  7 0.26949099
2 MCH02+Sal 0.6355788  2.853276  7 0.02457293
3   VEH+PTZ 0.4671304 -0.416551  6 0.69149775
4 MCH02+PTZ 0.6280798  2.906087  7 0.02278727
```

G3.3. NOR — Distancia total (GLM Gamma, log)

Modelo: dist ~ grupo

Entorno: stats 4.5.0 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
Call:
glm(formula = reformulate("grupo", v), family = Gamma("log"),
    data = nvd)

Coefficients:
               Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)     7.87107    0.06912 113.877   <2e-16 ***
grupoMCH02+Sal -0.11460    0.09775  -1.172   0.2513
grupoVEH+PTZ   -0.19763    0.10118  -1.953   0.0612 .
grupoMCH02+PTZ -0.07422    0.09775  -0.759   0.4543
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

(Dispersion parameter for Gamma family taken to be 0.03821932)

    Null deviance: 1.7180  on 30  degrees of freedom
Residual deviance: 1.5662  on 27  degrees of freedom
AIC: 486.34

Number of Fisher Scoring iterations: 4


# Razón de verosimilitud M0 (~1) vs M1 (~grupo):
Analysis of Deviance Table

Model 1: dist ~ 1
Model 2: dist ~ grupo
  Resid. Df Resid. Dev Df Deviance Pr(>Chi)
1        30     1.7180
2        27     1.5662  3  0.15182   0.2645
```

G3.4. NOR — Velocidad media (GLM Gamma, log)

Modelo: vel ~ grupo — stats::glm

Entorno: stats 4.5.0 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
Call:
glm(formula = reformulate("grupo", v), family = Gamma("log"),
    data = nvd)

Coefficients:
               Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
```

```
(Intercept)     2.16753    0.06913  31.354   <2e-16 ***
grupoMCH02+Sal -0.11467    0.09777  -1.173   0.2511
grupoVEH+PTZ   -0.19774    0.10120  -1.954   0.0611 .
grupoMCH02+PTZ -0.07434    0.09777  -0.760   0.4536
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

(Dispersion parameter for Gamma family taken to be 0.0382331)

    Null deviance: 1.7185  on 30  degrees of freedom
Residual deviance: 1.5665  on 27  degrees of freedom
AIC: 132.72

Number of Fisher Scoring iterations: 4


# Razón de verosimilitud M0 (~1) vs M1 (~grupo):
Analysis of Deviance Table

Model 1: vel ~ 1
Model 2: vel ~ grupo
  Resid. Df Resid. Dev Df Deviance Pr(>Chi)
1        30     1.7185
2        27     1.5665  3  0.15197   0.2642
```

G3.5. Barnes — Latencia (Gamma GLMM, log)

Modelo: lat ~ grupo*dia + intento + (1+dia|id)

Entorno: lme4 2.0.1 -MASS 7.3.65 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
Generalized linear mixed model fit by maximum likelihood (Laplace
  Approximation) [glmerMod]
 Family: Gamma  ( log )
Formula: y ~ grupo + dia_c + intento + (1 | id) + grupo:dia_c
   Data: d
Control: GCTRL

      AIC       BIC    logLik -2*log(L)  df.resid
   2009.5    2048.1    -993.7    1987.5       237

Scaled residuals:
    Min      1Q  Median      3Q     Max
-0.9512 -0.6200 -0.2957  0.2829  4.6283

Random effects:
 Groups Name        Variance Std.Dev.
 id     (Intercept) 0.1824   0.427
Number of obs: 248, groups:  id, 31

Fixed effects:
                    Estimate Std. Error t value Pr(>|z|)
(Intercept)          3.29860    0.18029  18.296  < 2e-16 ***
grupoMCH02+Sal      -0.06578    0.24389  -0.270  0.78740
grupoVEH+PTZ        -0.34839    0.25242  -1.380  0.16752
grupoMCH02+PTZ       0.07583    0.24399   0.311  0.75595
dia_c               -0.23361    0.08803  -2.654  0.00796 **
intento2            -0.47502    0.10210  -4.653 3.28e-06 ***
grupoMCH02+Sal:dia_c -0.12104    0.12076  -1.002  0.31622
grupoVEH+PTZ:dia_c   -0.20090    0.12772  -1.573  0.11573
grupoMCH02+PTZ:dia_c -0.20847    0.12280  -1.698  0.08958 .
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

Correlation of Fixed Effects:
            (Intr) grMCH02+S grVEH+PTZ grMCH02+PTZ dia_c  intnt2 gMCH02+S:
grpMCH02+Sl -0.680
grupVEH+PTZ -0.654  0.483
grMCH02+PTZ -0.670  0.499     0.482
dia_c       -0.003  0.002     0.002     0.002
intento2    -0.292  0.016     0.004    -0.017      -0.003
```

```
grMCH02+S:_  0.024 -0.013    -0.002    -0.001      -0.727 -0.080
grVEH+PTZ:_  0.010 -0.002    -0.010    -0.002      -0.688 -0.030  0.508
gMCH02+PTZ:  0.012 -0.002    -0.002    -0.001      -0.717 -0.032  0.524
            gVEH+PTZ:
grpMCH02+Sl
grupVEH+PTZ
grMCH02+PTZ
dia_c
intento2
grMCH02+S:_
grVEH+PTZ:_
gMCH02+PTZ:  0.494

# LRT efecto de grupo  [M0: ~dia+intento+(re)  vs  M1: ~grupo*dia+intento+(re)]:
Data: d
Models:
fits$m0: y ~ dia_c + intento + (1 | id)
fits$m1: y ~ grupo + dia_c + intento + (1 | id) + grupo:dia_c
        npar    AIC    BIC  logLik -2*log(L)  Chisq Df Pr(>Chisq)
fits$m0    5 2004.1 2021.7 -997.06    1994.1
fits$m1   11 2009.5 2048.1 -993.73    1987.5 6.6452  6     0.3549

# LRT interacción grupo:dia  [~grupo+dia+intento+(re)  vs  ~grupo*dia+intento+(re)]:
Data: d
Models:
fits$m_i: y ~ grupo + dia_c + intento + (1 | id)
fits$m1: y ~ grupo + dia_c + intento + (1 | id) + grupo:dia_c
         npar    AIC    BIC  logLik -2*log(L)  Chisq Df Pr(>Chisq)
fits$m_i    8 2007.1 2035.2 -995.53    1991.1
fits$m1    11 2009.5 2048.1 -993.73    1987.5 3.6026  3     0.3077
```

G3.6. Barnes - Errores (GLMM binomial negativa)

Modelo: err ~ grupo*dia + intento + (1+dia|id)

Entorno: lme4 2.0.1 -MASS 7.3.65 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
Generalized linear mixed model fit by maximum likelihood (Laplace
  Approximation) [glmerMod]
 Family: Negative Binomial(1.2431)  ( log )
Formula: y ~ grupo * dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
   Data: d
Control: GCTRL

      AIC       BIC    logLik -2*log(L)  df.resid
   1381.2    1426.9    -677.6    1355.2       235

Scaled residuals:
    Min      1Q  Median      3Q     Max
-1.0467 -0.7584 -0.1653  0.5644  2.5954

Random effects:
 Groups Name        Variance Std.Dev. Corr
 id     (Intercept) 0.063726 0.25244
        dia_c       0.007105 0.08429  1.00
Number of obs: 248, groups:  id, 31

Fixed effects:
                    Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)           2.0788     0.1640  12.678  < 2e-16 ***
grupoMCH02+Sal       -0.3249     0.2175  -1.494 0.135249
grupoVEH+PTZ         -0.6437     0.2289  -2.812 0.004922 **
grupoMCH02+PTZ       -0.1956     0.2163  -0.904 0.365852
dia_c                -0.1142     0.1138  -1.004 0.315372
intento2             -0.4285     0.1287  -3.331 0.000866 ***
grupoMCH02+Sal:dia_c -0.2779     0.1643  -1.692 0.090674 .
grupoVEH+PTZ:dia_c   -0.3066     0.1741  -1.761 0.078228 .
grupoMCH02+PTZ:dia_c -0.1952     0.1628  -1.199 0.230524
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

Correlation of Fixed Effects:
            (Intr) grMCH02+S grVEH+PTZ grMCH02+PTZ dia_c  intnt2 gMCH02+S:
```

```
grpMCH02+Sl -0.647
grupVEH+PTZ -0.616  0.463
grMCH02+PTZ -0.650  0.490     0.465
dia_c        0.157 -0.119    -0.113    -0.120
intento2    -0.379  0.004     0.007     0.002       0.002
grMCH02+S:_ -0.111  0.196     0.079     0.083      -0.693  0.004
grVEH+PTZ:_ -0.105  0.078     0.208     0.078      -0.654  0.005  0.453
gMCH02+PTZ: -0.112  0.083     0.079     0.187      -0.699  0.003  0.484
            gVEH+PTZ:
grpMCH02+Sl
grupVEH+PTZ
grMCH02+PTZ
dia_c
intento2
grMCH02+S:_
grVEH+PTZ:_
gMCH02+PTZ:  0.457
optimizer (bobyqa) convergence code: 0 (OK)
boundary (singular) fit: see help('isSingular')


# LRT efecto de grupo  [M0: ~dia+intento+(re)  vs  M1: ~grupo*dia+intento+(re)]:
Data: d
Models:
fits$m0: y ~ dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
fits$m1: y ~ grupo * dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
        npar    AIC    BIC  logLik -2*log(L)  Chisq Df Pr(>Chisq)
fits$m0    7 1378.8 1403.4 -682.41    1364.8
fits$m1   13 1381.2 1426.9 -677.60    1355.2 9.6199  6     0.1416

# LRT interacción grupo:dia  [~grupo+dia+intento+(re)  vs  ~grupo*dia+intento+(re)]:
Data: d
Models:
fits$m_i: y ~ grupo + dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
fits$m1: y ~ grupo * dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
         npar    AIC    BIC  logLik -2*log(L)  Chisq Df Pr(>Chisq)
fits$m_i   10 1379.5 1414.6 -679.74    1359.5
fits$m1    13 1381.2 1426.9 -677.60    1355.2 4.2676  3      0.234
```

G3.7. Barnes — Distancia total (Gamma GLMM, log)

Modelo: dist ~ grupo*dia + intento + (1+dia|id)

Entorno: lme4 2.0.1 -MASS 7.3.65 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
Generalized linear mixed model fit by maximum likelihood (Laplace
  Approximation) [glmerMod]
 Family: Gamma  ( log )
Formula: y ~ grupo * dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
   Data: d
Control: GCTRL

      AIC       BIC    logLik -2*log(L)  df.resid
   3261.9    3307.5   -1617.9    3235.9       235

Scaled residuals:
    Min      1Q  Median      3Q     Max
-1.1456 -0.6527 -0.2908  0.4239  4.1731

Random effects:
 Groups Name        Variance Std.Dev. Corr
 id     (Intercept) 0.18971  0.4356
        dia_c       0.07202  0.2684   -0.50
Number of obs: 248, groups:  id, 31

Fixed effects:
                    Estimate Std. Error t value Pr(>|z|)
(Intercept)          6.07045    0.15956  38.046  < 2e-16 ***
grupoMCH02+Sal      -0.23760    0.21793  -1.090  0.27560
grupoVEH+PTZ        -0.60384    0.22564  -2.676  0.00745 **
grupoMCH02+PTZ      -0.18912    0.21795  -0.868  0.38556
dia_c               -0.16100    0.10583  -1.521  0.12818
intento2            -0.45220    0.08166  -5.537 3.07e-08 ***
```

```
grupoMCH02+Sal:dia_c -0.17631    0.14751  -1.195  0.23199
grupoVEH+PTZ:dia_c   -0.08209    0.15359  -0.534  0.59300
grupoMCH02+PTZ:dia_c -0.17109    0.14926  -1.146  0.25168
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

Correlation of Fixed Effects:
            (Intr) grMCH02+S grVEH+PTZ grMCH02+PTZ dia_c  intnt2 gMCH02+S:
grpMCH02+Sl -0.684
grupVEH+PTZ -0.656  0.482
grMCH02+PTZ -0.680  0.500     0.483
dia_c       -0.343  0.254     0.245     0.254
intento2    -0.259  0.006    -0.011    -0.009      -0.020
grMCH02+S:_  0.255 -0.364    -0.175    -0.181      -0.716 -0.019
grVEH+PTZ:_  0.242 -0.175    -0.360    -0.174      -0.689 -0.008  0.495
gMCH02+PTZ:  0.249 -0.180    -0.174    -0.355      -0.708 -0.005  0.509
            gVEH+PTZ:
grpMCH02+Sl
grupVEH+PTZ
grMCH02+PTZ
dia_c
intento2
grMCH02+S:_
grVEH+PTZ:_
gMCH02+PTZ:  0.489

# LRT efecto de grupo  [M0: ~dia+intento+(re)  vs  M1: ~grupo*dia+intento+(re)]:
Data: d
Models:
fits$m0: y ~ dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
fits$m1: y ~ grupo * dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
        npar    AIC    BIC  logLik -2*log(L)  Chisq Df Pr(>Chisq)
fits$m0    7 3259.8 3284.4 -1622.9    3245.8
fits$m1   13 3261.9 3307.5 -1617.9    3235.9 9.9534  6     0.1266

# LRT interacción grupo:dia  [~grupo+dia+intento+(re)  vs  ~grupo*dia+intento+(re)]:
Data: d
Models:
fits$m_i: y ~ grupo + dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
fits$m1: y ~ grupo * dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
         npar    AIC    BIC  logLik -2*log(L)  Chisq Df Pr(>Chisq)
fits$m_i   10 3257.7 3292.8 -1618.8    3237.7
fits$m1    13 3261.9 3307.5 -1617.9    3235.9 1.8489  3     0.6044
```

G3.8. Barnes — Velocidad media (Gamma GLMM, log)

Modelo: vel ~ grupo*dia + intento + (1+dia|id)

Entorno: lme4 2.0.1 -MASS 7.3.65 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
Generalized linear mixed model fit by maximum likelihood (Laplace
  Approximation) [glmerMod]
 Family: Gamma  ( log )
Formula: y ~ grupo * dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
   Data: d
Control: GCTRL

      AIC       BIC    logLik -2*log(L)  df.resid
   1058.5    1104.2    -516.3    1032.5       235

Scaled residuals:
     Min       1Q   Median       3Q      Max
-2.29710 -0.70006 -0.00922  0.66826  2.70572

Random effects:
 Groups Name        Variance Std.Dev. Corr
 id     (Intercept) 0.21188  0.4603
        dia_c       0.06712  0.2591   -0.12
Number of obs: 248, groups:  id, 31

Fixed effects:
                     Estimate Std. Error t value Pr(>|z|)
```

```
(Intercept)           2.33727    0.06209  37.641   <2e-16 ***
grupoMCH02+Sal       -0.01368    0.08621  -0.159   0.8740
grupoVEH+PTZ         -0.12368    0.08925  -1.386   0.1659
grupoMCH02+PTZ       -0.10249    0.08621  -1.189   0.2345
dia_c                 0.06495    0.03446   1.885   0.0595 .
intento2             -0.05703    0.02371  -2.405   0.0162 *
grupoMCH02+Sal:dia_c -0.04741    0.04879  -0.972   0.3312
grupoVEH+PTZ:dia_c   -0.04359    0.05045  -0.864   0.3877
grupoMCH02+PTZ:dia_c -0.05782    0.04873  -1.186   0.2355
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

Correlation of Fixed Effects:
            (Intr) grMCH02+S grVEH+PTZ grMCH02+PTZ dia_c  intnt2 gMCH02+S:
grpMCH02+Sl -0.695
grupVEH+PTZ -0.670  0.483
grMCH02+PTZ -0.694  0.500     0.483
dia_c       -0.122  0.087     0.084     0.087
intento2    -0.190  0.002    -0.003    -0.002       0.005
grMCH02+S:_  0.085 -0.124    -0.060    -0.062      -0.706  0.002
grVEH+PTZ:_  0.083 -0.060    -0.123    -0.060      -0.683 -0.002  0.482
gMCH02+PTZ:  0.087 -0.062    -0.060    -0.123      -0.707 -0.007  0.499
            gVEH+PTZ:
grpMCH02+Sl
grupVEH+PTZ
grMCH02+PTZ
dia_c
intento2
grMCH02+S:_
grVEH+PTZ:_
gMCH02+PTZ:  0.483

# LRT efecto de grupo  [M0: ~dia+intento+(re)  vs  M1: ~grupo*dia+intento+(re)]:
Data: d
Models:
fits$m0: y ~ dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
fits$m1: y ~ grupo * dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
        npar    AIC    BIC  logLik -2*log(L)  Chisq Df Pr(>Chisq)
fits$m0    7 1051.1 1075.7 -518.53    1037.1
fits$m1   13 1058.5 1104.2 -516.26    1032.5 4.5445  6     0.6034

# LRT interacción grupo:dia  [~grupo+dia+intento+(re)  vs  ~grupo*dia+intento+(re)]:
Data: d
Models:
fits$m_i: y ~ grupo + dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
fits$m1: y ~ grupo * dia_c + intento + (1 + dia_c | id)
         npar    AIC    BIC  logLik -2*log(L)  Chisq Df Pr(>Chisq)
fits$m_i   10 1054.1 1089.2 -517.04    1034.1
fits$m1    13 1058.5 1104.2 -516.26    1032.5 1.5602  3     0.6685
```

G4. Kindling — Modelo de Cox de riesgos proporcionales

Modelo: Surv(tiempo, evento) ~ grupo

Entorno: survival 3.8.3 -R version 4.5.0 (2025-04-11)

```
Call:
coxph(formula = Surv(time, event) ~ grupo, data = per)

  n= 15, number of events= 15

                coef exp(coef) se(coef)     z Pr(>|z|)
grupoMCH02+PTZ 1.004     2.729    0.628 1.598     0.11

               exp(coef) exp(-coef) lower .95 upper .95
grupoMCH02+PTZ     2.729     0.3665    0.7969     9.344

Concordance= 0.626  (se = 0.083 )
Likelihood ratio test= 2.75  on 1 df,   p=0.1
Wald test            = 2.56  on 1 df,   p=0.1
Score (logrank) test = 2.75  on 1 df,   p=0.1
```