

Diferencias sexuales en el aprendizaje del Laberinto Hebb-Williams con ratones OF1

Sex differences in OF1 mice's learning of the Hebb-Williams Maze

Cristina Caballero-Reinaldo*, Concepción Inmaculada Navarro-Francés y María Carmen Arenas
Universitat de Valencia, España.

Resumen

El Laberinto Hebb-Williams es una prueba utilizada para evaluar el aprendizaje espacial en animales. Aunque la capacidad espacial es una función cognitiva considerada sexodimórfica, donde los machos muestran una ventaja frente a las hembras, los resultados de los pocos estudios que evalúen diferencias de sexo en esta prueba no son concluyentes. Por ello, en este estudio nos propusimos comprobar si los ratones OF1 machos ejecutaban mejor que las hembras las tareas del Laberinto Hebb-Williams, y si esa ventaja era independiente de la dificultad del laberinto. Se utilizó la versión reducida para ratones, la cual consta de 5 laberintos, 3 considerados fáciles y 2 difíciles. Los resultados en general corroboraron una mejor ejecución de los machos frente a las hembras, con tiempos de ejecución y número de errores más reducidos y menor número de ensayos para alcanzar el criterio de adquisición. Sin embargo, estas diferencias de sexo no se dieron en todos los laberintos, manifestándose principalmente en los laberintos fáciles pero no en los difíciles. Se discuten posibles explicaciones a las diferencias entre machos y hembras en el aprendizaje de los laberintos en función de su dificultad, concluyéndose que la categorización de la dificultad de los laberintos es dependiente del sexo.

Palabras Clave: Laberinto Hebb-Williams, diferencias sexuales, ratones, aprendizaje espacial.

Cómo citar este artículo: Caballero-Reinaldo, C., Navarro-Francés, C. I., y Arenas, M. C. (2017). Diferencias sexuales en el aprendizaje del Laberinto Hebb-Williams son ratones OF1. *Escritos de Psicología*, 10, 1-12.

Abstract

The Hebb-Williams Maze is a test used to evaluate spatial learning in animals. Although sex differences in spatial ability have been observed in numerous species (males typically outperform females), inconclusive results have been obtained in the few studies that have used this test to assess male and female animals. This study investigated whether male OF1 mice performed better than OF1 mice on the Hebb-Williams Maze and whether any advantage was independent of the difficulty of the maze. We used a reduced version for mice, which consists of 5 mazes (3 easy and 2 difficult). In general, the results suggest that male mice performed better than female mice. The male mice showed shorter runtimes, a smaller number of errors, and fewer attempts to reach the criterion of acquisition. However, these sex differences were mainly found in the easy mazes but not in the difficult ones. We discuss the explanations for these differences in learning mazes based on their difficulty and conclude that the categorization of the difficulty of the mazes is sex-dependent.

Key Words: Hebb-Williams Maze, sex differences, mice, spatial learning

Correspondencia: Cristina Caballero-Reinaldo Departamento de Psicobiología. Facultad de Psicología. Universidad de Valencia. Av. Blasco Ibáñez, 21. 46010 VALENCIA (España). E-mail: reinaldo@alumni.uv.es . E-mail de la coautora Concepción Inmaculada Navarro-Francés: concep-navarro@uv.es . E-mail de la coautora María Carmen Arenas: carmen.arenas@uv.es. Este trabajo ha sido financiado con el Proyecto I+D+i del Ministerio de Económica y Competitividad (MINECO) PSI2015-69649-R.

Introducción

El Laberinto Hebb-Williams es un test diseñado por Donald O. Hebb y Kenneth Williams (1946) y validado por Rabinovitch y Rosvold (1951) para medir originalmente "inteligencia animal" en ratas, aunque hoy en día es considerada una prueba para evaluar el aprendizaje espacial en animales de laboratorio (Galsworthy et al., 2005; Pritchett et al., 2004; Stanford y Brown, 2003). En la versión original de esta prueba, los animales, una vez habituados al aparato, son entrenados en un conjunto de seis laberintos-problemas hasta que llegan a un criterio de adquisición, y posteriormente realizan la evaluación de la prueba en una serie de doce problemas con ocho ensayos por día y laberinto. Esta prueba fue adaptada posteriormente a ratones reduciendo el número de laberintos-problemas (Hoplight, Boehm, Hyde, Deni y Deneberg, 1996).

Existen dos procedimientos diferentes para la aplicación de esta prueba, la versión donde se recompensa con comida (food-reward paradigm) y la versión de escape de agua (water-escape paradigm) (Hoplight et al., 1996; Standford y Brown, 2003), correspondientes a dos versiones del laberinto ya se utilice un refuerzo positivo o negativo. Aunque varíe el tipo de refuerzo en cada versión, la finalidad es común en ambas, promover la motivación del animal por salir del laberinto. En la versión donde se recompensa con comida, el animal con acceso restringido al alimento, lo encuentra en el compartimento de meta. Sin embargo, en la versión de escape de agua, la motivación del animal por alcanzar la meta es escapar del agua fría que hay dentro del laberinto. Así, para resolver el laberinto se requiere tanto el uso de la memoria a largo plazo como de la memoria de trabajo. La localización de los compartimentos de salida y meta, así como la posición del laberinto dentro de la habitación permanecen constantes a lo largo de todos los problemas (memoria a largo plazo), mientras que la localización de las barreras internas cambia en cada problema (memoria de trabajo) (Hoplight et al., 1996; Peña, Prunell, Rotllant, Armario y Escorihuela, 2009).

Los problemas del Laberinto Hebb-Williams se han distribuido en tres grupos de dificultad (baja, moderada, y alta) (Meunier, Saint-Marc y Destrade, 1986) o en solo dos (baja y alta) (Stanford y Brown, 2003), lo que permite discriminar mejor qué animales muestran déficits de aprendizaje. Además, el análisis de los errores como una medida del aprendizaje, independientemente del tiempo en el que el animal resuelve el laberinto, elimina el factor de la habilidad locomotora en el análisis de las capacidades de aprendizaje (Stanford y Brown, 2003).

Mediante este laberinto puede obtenerse una gran cantidad de información acerca del curso del aprendizaje de un roedor, habiendo mostrado su utilidad para: (a) investigar los efectos del enriquecimiento ambiental sobre la capacidad de aprendizaje del animal (Peña et al., 2009), (b) evaluar la recuperación del aprendizaje después de lesiones límbicas en ratones (Meunier et al., 1986), (c) diferenciar la capacidad para aprender los laberintos según el sexo y/o la especie de ratón (Stanford y Brown, 2003) y (d) evaluar el efecto de fármacos sobre el aprendizaje y la memoria de los ratones (Vidal-Infer, Aguilar, Miñarro y Rodríguez-Arias, 2012).

La realización de laberintos es el procedimiento o técnica de evaluación más utilizada para evaluar la capacidad espacial (Bertholet et al., 2015). Las diferencias de género en el aprendizaje espacial es una de las más documentadas en las habilidades cognitivas o resolución de problemas (Kimura, 2004; Wong-Carrera y Álvarez-González, 2012). Como tendencia general, el sexo masculino destaca sobre el femenino en determinadas tareas que implican orientación espacial, tanto en humanos (Kimura, 2004; Sánchez-Sánchez, Sánchez-Marín y Sin-Villagomez, 2011) como en roedores (Rodríguez, Torres, Mackintosh y Chamizo, 2010; Stanford y Brown, 2003). Sin embargo, son escasas las investigaciones que profundizan en la interacción de las diferencias de sexo y el Laberinto Hebb-Williams: (a) no todos los estudios que han empleado esta prueba de aprendizaje espacial han incluido en su muestra a ratones hembras (Vidal-Infer et al., 2012); (b) las investigaciones que han trabajado tanto con ratones machos como con ratones hembras, pese a encontrar las diferencias de sexo pertinentes, no han centrado su objeto de estudio en el análisis profundo de este hallazgo (Galsworthy et al., 2005; Peña et al., 2009; Standford y Brown, 2003).

Es por ello que, considerando la hipótesis de una mejor ejecución de los machos con respecto a las hembras en el Laberinto Hebb-Williams, nuestro principal propósito es evaluar si dichas diferencias se presentan en todos los laberintos independientemente de su grado de dificultad.

Método

Animales

Los ratones machos y hembras de la cepa OF1 (N=48) importados por Charles River Laboratories (Barcelona, Spain) llegaron al laboratorio a los 42 días de edad. Los animales se agruparon en jaulas (27 x 27 x 15 cm³) por sexo y de cuatro en cuatro, con libre acceso a la comida y a la bebida, encontrándose

a una temperatura ambiente constante de $21\pm 22^{\circ}\text{C}$, con una humedad del 60% y bajo un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12 horas (con fase de luz desde las 20:00 hasta las 8:00 horas).

El protocolo experimental y el uso de los animales estuvieron conforme a la normativa legal vigente (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of September 22, 2010) sobre la protección de animales usados con fines experimentales. El estudio que se presenta forma parte de una investigación cuyo diseño ha sido aprobado por el Comité del uso y cuidado de animales de la Universitat de València (2014/002/UVEG/018).

Instrumentos

El Laberinto Hebb-Williams está formado por 4 paredes y suelo de plexiglás negro (60 x 60 x 10 cm) y cubierto por una tapa de plexiglás transparente con agujeros donde se fijan las barreras correspondientes para establecer las diferentes configuraciones del laberinto. Unas líneas blancas en el suelo marcan la división del laberinto en 36 cuadrantes de 10 x 10 cm. El laberinto contiene también un compartimento rectangular de salida y otro de meta, ambos de 14 x 9 cm, ubicados de forma diagonal en esquinas opuestas. Los diferentes laberintos se configuran con unas barreras negras de 10 cm de alto x 2,5 cm de base de plexiglás negro de diferentes largos que se fijan con tornillos fácilmente a los agujeros de la tapa. Dado que este techo del laberinto es transparente, permite que el animal pueda utilizar elementos de la sala experimental (paredes, puerta, estanterías y el propio experimentador) como claves extralaberínticas.

El laberinto contiene agua auto-clavada mantenida a una temperatura de $12-15^{\circ}\text{C}$ y el nivel de profundidad del agua es de 3,5 cm, por lo que el ratón no tiene que nadar para realizar el laberinto, ya que el agua solo le llega hasta el abdomen. En el compartimento de meta se coloca un lecho de papel seco, de forma que salir del laberinto resulte reforzante para el animal.

Procedimiento

Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en dos tandas ($n=24$) con igual número de machos y hembras para la realización de la prueba (1ª tanda: Post Natal Day, PND 103-113; 2ª tanda: PND 124-134).

El procedimiento seguido se basó en el descrito por Galsworthy et al. (2005). Se utilizó el paradigma de escape de agua, en el que los ratones debían llegar desde el compartimento de salida hasta el compartimento de meta con el fin de escapar del agua fría que había en él, y la versión reducida de 5 laberintos, 3 fáciles y 2 difíciles, siguiendo el procedimiento realizado en Vidal-Infer et al. (2012).

Todo el procedimiento se ejecutó bajo condiciones de luz tenue, simulando el periodo de actividad de los ratones. Las barreras, atornilladas a la tapa de plexiglás transparente, conformaban el camino principal hacia el compartimento de meta; de este modo, las zonas que quedaban fuera del camino principal eran consideradas como zonas de error. Las pruebas se estructuraron en un total de 8 días, de los cuales los 3 primeros eran considerados de prueba/adaptación a la tarea, y los 5 siguientes de test. Así, el primer día se realizó la prueba de habituación en campo abierto, permitiendo al animal explorar el laberinto sin agua y sin barreras (1 ensayo/día). Los 2 días siguientes se llevaron a cabo dos laberintos de prueba (problema A y problema D, respectivamente, véase Pritchett y Mulder, 2004), con agua y con barreras pero sin contabilizar la entrada en las zonas de error (4 ensayos/día). Además, los ratones eran aclimatados al experimentador (handling) durante la habituación y la fase de prueba. Posteriormente comenzó la fase de test, donde se realizaron los 5 laberintos test -1, 3, 4, 5 y 8- (1 laberinto cada día con 8 ensayos). Siguiendo la clasificación de Stanford y Brown (2003), los laberintos se definieron como fáciles (1, 3 y 4) o difíciles (5 y 8), de modo que a lo largo de estos 5 días de test se alternaron los laberintos con la finalidad de no facilitar el aprendizaje del laberinto siguiente de manera sesgada, siendo el orden de administración de los mismos en todos los grupos de animales: 1, 5, 3, 4 y 8 (Vidal-Infer et al., 2012). Teniendo en cuenta que el ciclo estral de los roedores dura entre 4-5 días, que se dividieron las hembras en dos grupos iguales a la hora de realizar los laberintos y dado que todo el proceso de las pruebas conductuales duraba 8 días, no se controló la fase del ciclo estral de las hembras ya que realizaron los tests en todas las fases.

Todos los ensayos finalizaban con la llegada del animal al compartimento de meta (4 patas dentro del compartimento de meta) o transcurridos 300 segundos desde que el ratón abandonaba el compartimento de salida (4 patas fuera del compartimento de salida). Si el animal no conseguía encontrar la salida del laberinto una vez transcurrido el tiempo límite se le guiaba hasta la meta, y en el caso de que un ratón realizase 3 ensayos consecutivos excediendo el límite de tiempo establecido, se retiraba al animal del laberinto de ese día.

El tiempo se controló mediante un cronómetro, que comenzaba la cuenta cuando el animal colocaba las 4 patas fuera del compartimento de salida, cerrándose tras él la puerta del compartimento para impedir que volviese a entrar. La puerta del compartimento de meta se mantenía abierta hasta que el animal entrase con las cuatro patas, una vez fuera del laberinto se cerraba la compuerta de meta para impedir que el ratón volviese a entrar al laberinto. El número de errores que cometía el animal en cada laberinto era registrado por el investigador mediante observación; y se consideró que un ratón entraba en una zona de error cuando sus 4 patas estaban dentro de ella.

Por tanto, las medidas registradas fueron: a) tiempo (en segundos) de llegada a la meta en cada ensayo de cada laberinto; b) número de errores por ensayo; y c) número del ensayo en el cual se consideraba que el animal había aprendido el recorrido del laberinto, siendo el criterio de adquisición realizar dos ensayos consecutivos en menos de 60 segundos.

Análisis de datos

Se realizaron dos análisis de varianza ANOVAs de medidas repetidas para cada medida registrada en el Laberinto Hebb-Williams (tiempo medio de ejecución en cada laberinto, número medio de errores cometidos en cada laberinto y criterio de adquisición de cada laberinto). En el primer ANOVA se consideró una variable entre-grupos: Sexo (con dos niveles: machos, hembras) y una variable intra-grupos: Dificultad del Laberinto (con dos niveles: fácil, difícil); en el segundo ANOVA, la variable entre-grupos Sexo y otra variable intra-grupos: Laberintos (con cinco niveles, coincidentes con los cinco laberintos: laberinto 1, laberinto 5, laberinto 3, laberinto 4, laberinto 8). Para realizar las comparaciones post-hoc se utilizó la prueba de Bonferroni. Teniendo en cuenta que nuestro objetivo era comprobar las diferencias de sexo en la realización de los diferentes laberintos, también se realizaron ANOVAs de un factor (Sexo) para cada laberinto (8) en cada medida (3). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS (IBM SPSS Statistics, versión 20).

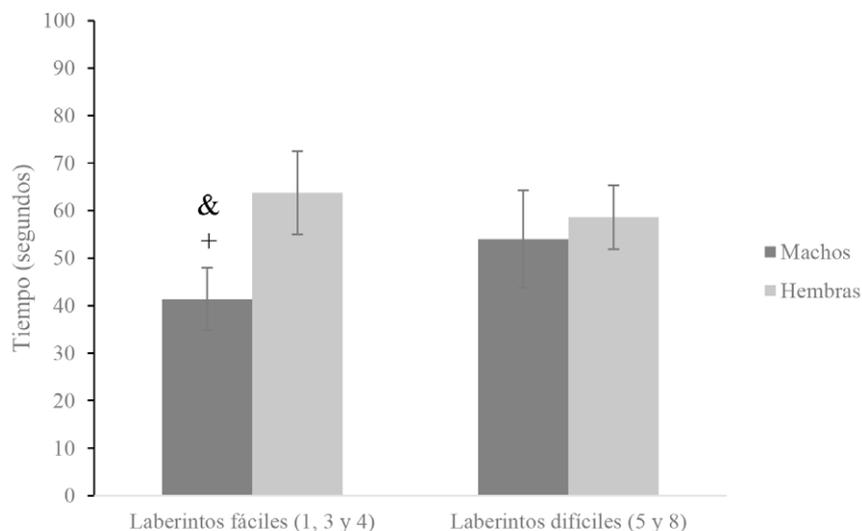
Resultados

Tiempo de ejecución

El ANOVA del tiempo medio de ejecución de los laberintos, distinguiendo los fáciles de los difíciles, nos muestra que no existen diferencias significativas debidas a la variable Sexo, ni tampoco a la Dificultad del Laberinto [$F(1,42) < 1.5$; n.s.]. Sin embargo, sí se observan diferencias significativas en la interacción Sexo*Dificultad del Laberinto [$F(1,42) = 5.174$; $p < 0.05$]. Concretamente existen diferencias sexuales en el tiempo medio empleado en los laberintos fáciles, mostrando que los machos tardaron menos tiempo que las hembras en su resolución ($p < 0.05$). Asimismo, también se observa que los machos requirieron de menos tiempo para realizar los laberintos fáciles en comparación con los difíciles ($p < 0.05$), no existiendo esta diferencia en las hembras

Figura 1. Tiempo medio requerido para la ejecución del Laberinto Hebb-Williams.

(A) Las barras representan la media (\pm SEM) de tiempo (segundos) de la realización de los laberintos fáciles (1, 3 y 4) y difíciles (5 y 8) en función del sexo.

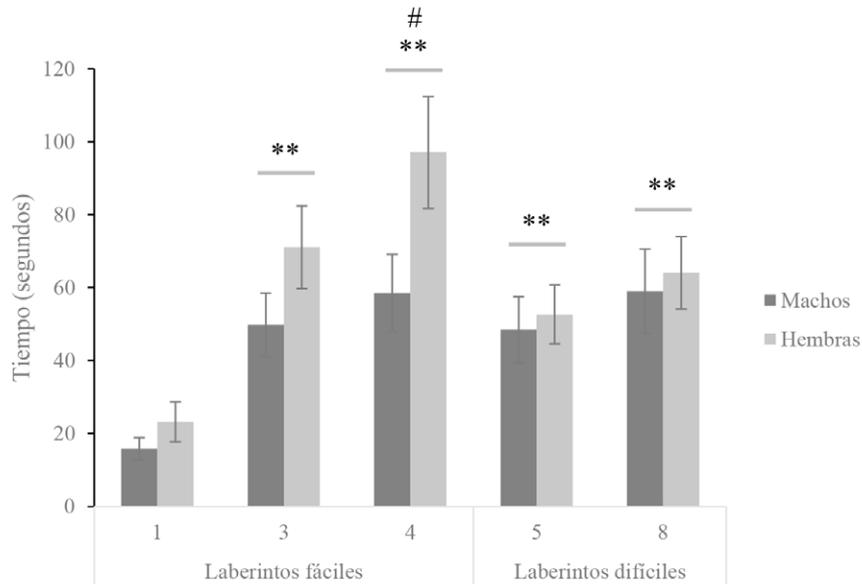


& $p < 0.05$ vs. hembras laberintos fáciles

El ANOVA del tiempo medio que tarda el animal en realizar los 8 ensayos de cada laberinto muestra diferencias estadísticamente significativas en la variable Laberinto [$F(4,39)=11.126$; $p<0.001$]. En el análisis post-hoc se observa que los animales en conjunto tardaron significativamente menos tiempo en la realización del Laberinto 1 en comparación con los Laberintos 3 ($p<0.001$), 4 ($p<0.001$), 5 ($p<0.001$), y 8 ($p<0.001$); además, los ratones tardaron significativamente más tiempo en ejecutar el Laberinto 4 que el 5 ($p<0.05$)

Figura 1. Tiempo medio requerido para la ejecución del Laberinto Hebb-Williams.

(B) Las barras representan la media (\pm SEM) de tiempo de ejecución de cada laberinto en función del sexo.

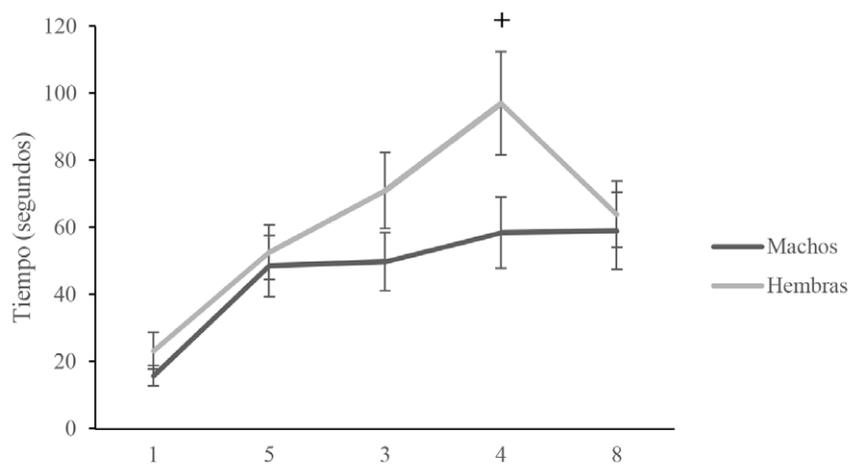


+ $p<0.05$ vs. machos laberintos difíciles; ** $p<0.01$ vs. laberinto 1; # $p<0.05$ vs. laberinto 5

Los ANOVAs de un factor sólo revelaron diferencias de sexo en el tiempo empleado en la ejecución del Laberinto 4 [$F(1,45)=4.270$; $p<0.045$], mostrando las hembras un mayor tiempo medio en su realización

Figura 2. Evolución en la realización del Laberinto Hebb-Williams.

(A) Las líneas representan la media (\pm SEM) de tiempo requerido para la realización de cada laberinto en el mismo orden en que se realizaron las pruebas para cada sexo.



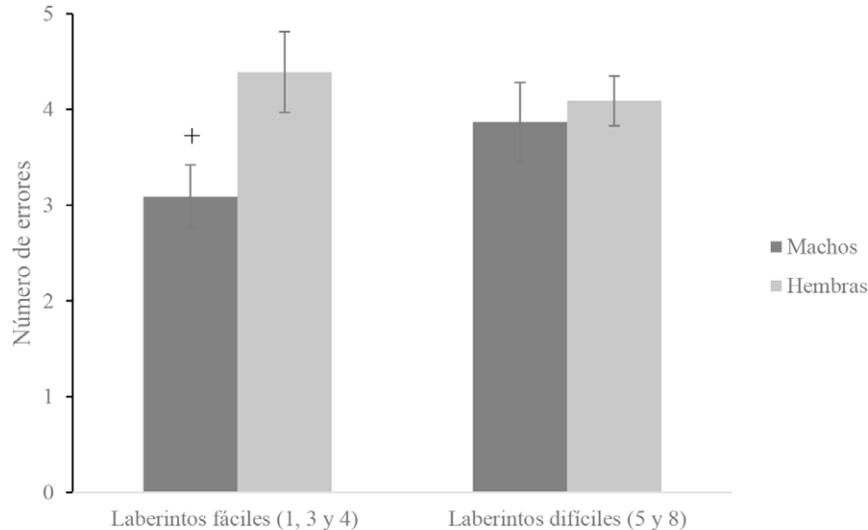
+ $p<0.05$ vs. hembras laberinto 4

Errores

El ANOVA para el análisis de los errores en función de la dificultad de cada laberinto (fácil, difícil), no mostró tampoco diferencias en las variables Sexo y Dificultad del Laberinto [$F(1,42)<1$; n.s.], pero sí en la interacción Sexo*Dificultad del Laberinto [$F(1,42)=4,599$; $p<0.05$]. Las pruebas post-hoc nos indican que los machos entraron con menor frecuencia que las hembras en las zonas de error de los laberintos fáciles ($p<0.05$), no observándose diferencias de sexo en los laberintos difíciles

Figura 3. Número de errores cometidos durante la ejecución del Laberinto Hebb-Williams.

(A) Las barras representan la media (\pm SEM) de errores cometidos en los laberintos fáciles (1, 3 y 4) y difíciles (5 y 8) en función del sexo.

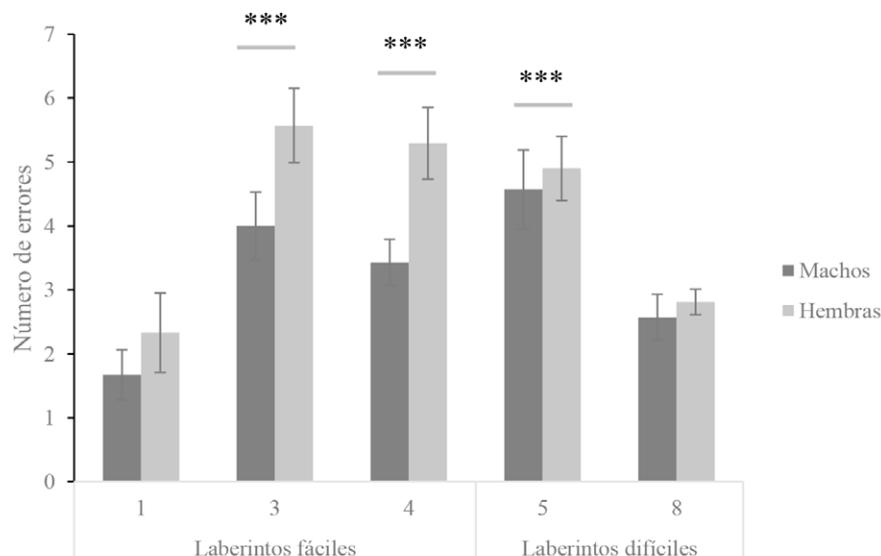


+ $p<0.05$ vs. hembras laberintos fáciles

El segundo ANOVA nos muestra diferencias estadísticamente significativas sólo en la variable Laberinto [$F(4,34)=18,973$; $p<0.001$]; concretamente, y tal y como indica el análisis post-hoc, los Laberintos 3 ($p<0.001$), 4 ($p<0.001$) y 5 ($p<0.001$) difieren estadísticamente con el Laberinto 1; siendo este último más fácil, ya que los animales cometieron menos errores en su ejecución, entrando un mayor número de veces en las zonas de error de los laberintos 3, 4 y 5. También se observa que los Laberintos 3 ($p<0.001$), 4 ($p<0.001$) y 5 ($p<0.001$) difieren significativamente del Laberinto 8. Los sujetos experimentales cometieron menos errores durante la ejecución del Laberinto 8 y entraron más veces en las zonas de error durante la ejecución de los laberintos 3, 4 y 5

Figura 3. Número de errores cometidos durante la ejecución del Laberinto Hebb-Williams.

(B) Las barras reasentan la media (\pm SEM) de errores cometidos en cada laberinto en función del sexo.

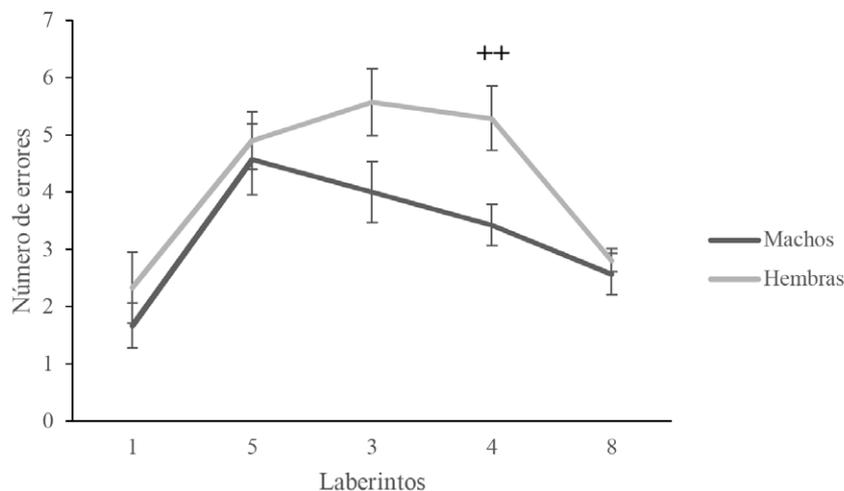


*** $p<0.001$ vs. laberintos 1 y 8

Los ANOVAs de un factor revelaron diferencias de sexo en el número de errores realizados sólo en la ejecución del Laberinto 4 [$F(1,45)=7.496$; $p<0.009$], mostrando las hembras un mayor número de errores en su realización

Figura 2. Evolución en la realización del Laberinto Hebb-Williams.

(B) Las líneas representan la media (\pm SEM) de errores cometidos en la realización de cada laberinto en el mismo orden en que se realizaron las pruebas para cada sexo.



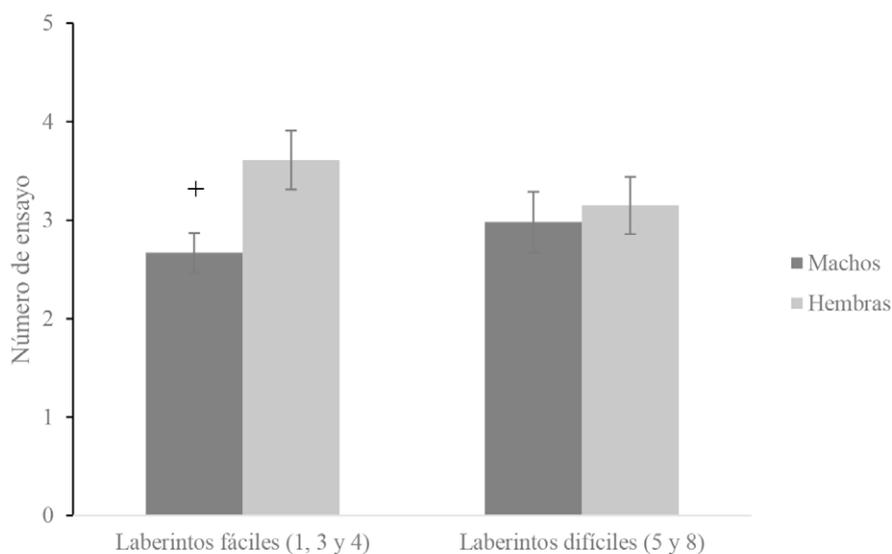
++ $p<0.01$ vs. hembras laberinto 4

Criterio de adquisición

El primer ANOVA nos muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas ni en el factor Sexo, ni en Dificultad del Laberinto [$F(1,42)<1$; n.s.]. Solamente se observa un efecto en la interacción Sexo*Dificultad del Laberinto [$F(1,42)=4.689$; $p<0.05$]. Las comparaciones por pares muestran que las diferencias se deben concretamente a una ventaja de los machos sobre las hembras en los laberintos fáciles; ellos necesitaron un menor número de ensayos que ellas para aprender estos laberintos ($p<0.05$). No obstante, esta diferencia de sexo no se observa en la ejecución de los laberintos difíciles

Figura 4. Criterio de adquisición en el aprendizaje del Laberinto Hebb-Williams.

(A) Las barras representan la media (\pm SEM) del ensayo donde alcanzaron el criterio de adquisición (realizar dos ensayos consecutivos en menos de 60 segundos) en el aprendizaje de los laberintos fáciles (1, 3 y 4) y difíciles (5 y 8) en función del sexo.

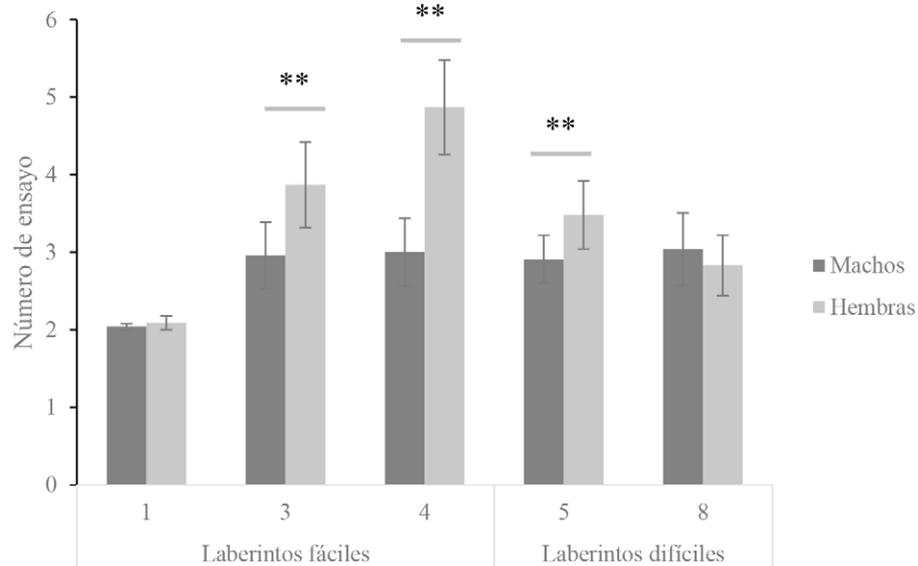


+ $p<0.05$ vs. hembras laberintos fáciles

El segundo ANOVA solamente nos muestra un efecto de la variable Laberinto [$F(4,39)=7.756$; $p<0.001$]. Según observamos en el análisis post-hoc, el Laberinto 1 difiere estadísticamente de los Laberintos 3 ($p<0.01$), 4 ($p<0.01$) y 5 ($p<0.01$); los sujetos necesitaron un menor número de ensayos para aprender la ejecución del Laberinto 1 en comparación con los otros laberintos (3, 4 y 5)

Figura 4. Criterio de adquisición en el aprendizaje del Laberinto Hebb-Williams.

(B) Las barras representan la media (\pm SEM) del ensayo donde alcanzaron el criterio de adquisición en el aprendizaje de cada laberinto en función del sexo.

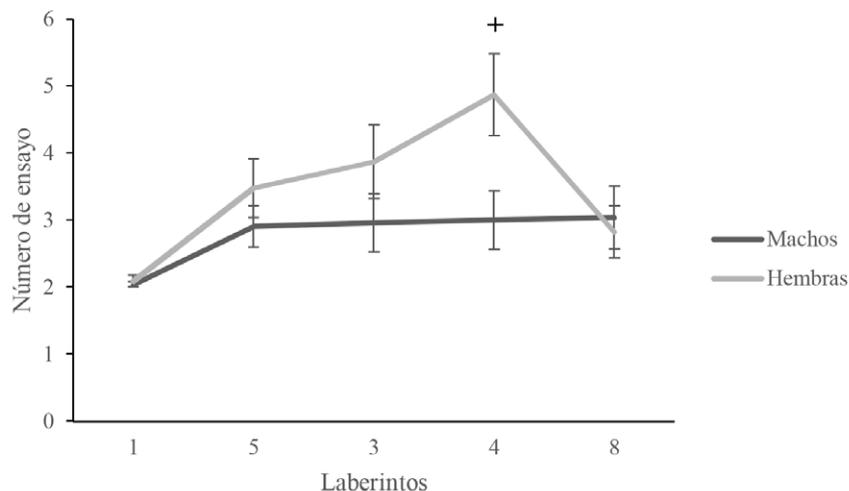


** $p<0.01$ vs. laberinto 1

Los ANOVAs de un factor revelaron diferencias de sexo sólo en el criterio de adquisición en el aprendizaje del Laberinto 4 [$F(1,45)=6.128$; $p<0.017$], siendo las hembras las que necesitaron un mayor número de ensayos para alcanzar el criterio de adquisición del laberinto

Figura 2. Evolución en la realización del Laberinto Hebb-Williams.

(C) Las líneas representan la media (\pm SEM) de ensayos necesarios para alcanzar el criterio de adquisición de cada laberinto en el mismo orden en que se realizaron las pruebas para cada sexo.



+ $p<0.05$ vs. hembras laberinto 4

Discusión

El propósito principal de este estudio fue evaluar diferencias de sexo en la ejecución de ratones machos y hembras en una tarea de orientación espacial compleja, como lo es el Laberinto de Hebb-Williams. La finalidad era comprobar si las diferencias sexuales se mantenían independientemente de la dificultad de los laberintos que componen esta prueba. Para llevar a cabo este propósito, se utilizó la versión

reducida de la prueba, muy utilizada en estudios anteriores con ratones, la cual presenta un menor número de laberintos y emplea el paradigma de escape del agua fría (Galsworthy et al., 2005; Vidal-Infer et al., 2012).

En general nuestros resultados han mostrado que en la realización del Laberinto Hebb-Williams, los machos en comparación con las hembras: a) requirieron menos tiempo para encontrar la meta en todos los laberintos realizados; b) cometieron un menor número de errores durante la ejecución de los mismos; y c) necesitaron un menor número de ensayos para adquirir el criterio de aprendizaje en la realización de todos los laberintos. Estas diferencias entre machos y hembras, están de acuerdo con la literatura la cual indica que las tareas que implican un aprendizaje espacial son sexodimórficas, destacando los ratones machos sobre las hembras en tareas de orientación espacial (Duarte-Guterman, Yagi, Chow y Galea, 2015; Jonasson, 2005; Keeley, Bye, Trow y McDonald, 2015; Postma, Jager, Kessels, Koppeschaar y van Honka, 2004; Shore, Stanford, MacInnes, Klein y Brown, 2001).

Sin embargo, estas diferencias entre machos y hembras no se observan siempre cuando se valora su ejecución en cada laberinto. A falta de literatura previa, este estudio ha sido pionero en observar que las diferencias de sexo en el aprendizaje de los laberintos están en función de la dificultad de los mismos, de modo que la dificultad de las tareas espaciales podría ser relativa y estar condicionada al sexo. Los machos de esta investigación: a) emplearon significativamente menos tiempo en realizar los laberintos fáciles (1, 3 y 4) que los difíciles (5 y 8), no hallándose esta diferencia en las hembras; b) cometieron menos errores que las hembras en los laberintos fáciles, no encontrándose esta diferencia entre sexos en los laberintos difíciles; y c) requirieron de un menor número de ensayos que las hembras para aprender la realización de los laberintos fáciles, no siendo observada esta diferencia de sexo tampoco en la ejecución de los laberintos difíciles.

Para entender por qué las diferencias de sexo sólo se observaron en los laberintos fáciles y no en los difíciles, conviene considerar los resultados obtenidos en cada uno de los laberintos por separado. El laberinto 1 resultó ser claramente el más fácil de ejecutar para todos los animales. Pero, mientras que los machos mostraron pocas diferencias en la realización de los laberintos 3, 4, 5 y 8; las hembras presentaron una mayor fluctuación en la ejecución de los mismos. Las mayores diferencias de sexo fueron observadas en el laberinto 4, obteniendo las hembras las peores puntuaciones en todas las variables analizadas pese a estar catalogado como fácil (Stanford y Brown, 2003). Sin embargo, en el laberinto 8, considerado difícil (Stanford y Brown, 2003), las hembras presentaron una ejecución mejor realizando un menor número de errores en comparación con los laberintos 3 y 4, clasificados como fáciles, o con el laberinto 5. Teniendo en cuenta que la configuración de los laberintos 4 y 8 es bastante similar (ver Pritchett y Mulder, 2004) y que el 4 se realizó en el día anterior al 8 (recuérdese el orden de la ejecución de la prueba), es posible que la realización del laberinto 4 facilitara en las hembras el aprendizaje del laberinto 8. Esto podría explicar por qué estas ejecutaron y aprendieron mejor el laberinto 8, aun siendo de los difíciles, en comparación con los otros. Así, observamos que en las hembras, las puntuaciones del laberinto 4 incrementan la media de los laberintos fáciles, mientras que las del laberinto 8 reducen las de los laberintos difíciles. Estos datos podrían explicar dos resultados de nuestro estudio: a) por qué se observan diferencias de sexo significativas en los laberintos fáciles pero no en los difíciles; y b) por qué no se encuentran diferencias significativas en las hembras entre los laberintos fáciles y los difíciles.

El tipo de estrategia empleada por machos y hembras podría ser la razón de por qué en este estudio se han observado estas diferencias de sexo en función de la configuración en la dificultad de los laberintos. Estudios tanto en humanos como con roedores indican que las diferencias sexodimórficas no solamente se dan en el rendimiento de las tareas espaciales, sino que también se presentan en las estrategias empleadas a la hora de resolver las mismas (Hawley, Grissom, Barratt, Conrad y Dohanich, 2012; Kimura, 2004). Los roedores machos tienden a utilizar la información geométrica para resolver una prueba de orientación espacial, mientras que las hembras son más dependientes de las señales ambientales (Bettis y Jacobs, 2009; Hawley et al., 2012; Köpen, Blankenship, Blackwell, Winter, Stuebing y Matuszewich, 2015; Rodríguez et al., 2010; Spritzer, Fox, Larsen, Batson, Wagner y Maher, 2013). Investigaciones con humanos indican conclusiones similares, observándose una tendencia del sexo femenino a utilizar estrategias de navegación como son las escenas familiares y los puntos de referencia o claves espaciales extralaberínticas y/o direcciones izquierda-derecha; y una preferencia de los varones por emplear estrategias de orientación como son las representaciones euclidianas o direcciones cardinales (norte, sur, este, oeste), distancia y/o pistas geométricas (formas de las paredes, patrones en techo, etc.) (Chaia y Jacobs, 2010; Kimura, 2004; Sánchez-Sánchez et al., 2011; Shore et al., 2001). Asimismo, Bettis y Jacobs (2009) sugieren que los machos se basan preferentemente en las señales extra-laberinto casi de manera exclusiva; mientras que las hembras podrían utilizar ambas señales (intra/extra-laberinto) y deciden escoger una de las dos a la hora de resolver una tarea espacial.

Son conocidas las correlaciones positivas entre la capacidad espacial de los sujetos y sus niveles de testosterona tanto en varones como en mujeres, así como las correlaciones negativas entre los niveles de estrógenos de las mujeres y su capacidad espacial (Locklear y Kritzer, 2014). Por otro lado, se ha comprobado que los andrógenos incrementan la neurogénesis en el hipocampo de los roedores machos adultos (Mahmoud, Wainwright y Galea, 2016), lo cual podría explicar la ventaja de estos sobre las hembras en las tareas espaciales. Recientemente, también se ha demostrado una menor magnitud de la potenciación a largo plazo (Long-term potentiation, LTP) en el hipocampo de ratas hembras en comparación con los machos en tareas espaciales como la piscina de Morris y el laberinto radial (Monfort, Gómez-Giménez, Llansola y Felipo, 2015). Según los autores del estudio, estas diferencias bioquímicas entre machos y hembras en la LTP del hipocampo podrían ser los mecanismos que probablemente contribuyan a explicar las diferencias de sexo en la ejecución de tareas espaciales como los laberintos. Así, una menor neurogénesis en el hipocampo de las hembras por niveles más bajos de testosterona, así como una menor LTP en el hipocampo tras el aprendizaje de una tarea espacial podrían ser las causas de una peor ejecución de las mismas en comparación con los machos en este tipo de pruebas.

En cualquier caso, y teniendo en cuenta las diferencias sexuales encontradas en este estudio, parece ser que la clasificación propuesta para el Laberinto Hebb-Williams en la que se ha basado este experimento no parece adaptarse por igual para ambos sexos. A partir de los resultados de nuestro estudio, proponemos una clasificación alternativa a la que señalan Stanford y Brown (2003) del Laberinto Hebb-Williams, concretamente en el paradigma de escape de agua. La clasificación que aportamos desde este trabajo no solamente tiene en cuenta la dificultad de los laberintos, sino también el sexo del animal y por ello se trataría de una clasificación novedosa, ya que hasta ahora no se había propuesto una clasificación considerando esta variable. Para las hembras los laberintos fáciles serían el 1 y el 8 y por ende, los laberintos 3, 4 y 5 los difíciles. Para los machos los laberintos 1, 5 y 3 serían los fáciles mientras que el 4 y el 8 los difíciles.

No obstante, es preciso añadir que el orden de administración de los laberintos que se ha seguido en este estudio podría sesgar la clasificación propuesta, concretamente en relación con el laberinto 8 en el sexo femenino. Partiendo de la posibilidad de que el laberinto 4 les ha podido facilitar la ejecución del laberinto 8 debido a su similitud, es probable que nuestra clasificación varíe si ambos laberintos se administran en un orden diferente y no en días consecutivos.

Con la finalidad de establecer una clasificación más adecuada tanto para machos como para hembras del Laberinto Hebb-Williams, sería conveniente realizar más estudios con otras cepas de ratones que incluyan machos y hembras en su muestra experimental y revisar así la dificultad de los laberintos en función del sexo.

Referencias

1. Bertholet, L., Torres Escobar, M., Depré, M., Chavan, C.F., Giuliani, F., Gisquet-Verrier, P., Preissmann, D. y Schenk, F. (2015). Spatial radial maze procedures and setups to dissociate local and distal relational spatial frameworks in humans. *Journal of Neuroscience Methods*, 253, 126-141. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.06.012>
2. Bettis, T.J. y Jacobs, L.F. (2009). Sex-specific strategies in spatial orientation in C57BL/6J mice. *Behavioural Processes*, 82, 249-255. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2009.07.004>
3. Chaia, X.J. y Jacobs, L.F. (2010). Effects of cue types on sex differences in human spatial memory. *Behavioural Brain Research*, 208, 336-342. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.11.039>
4. Duarte-Guterman, P., Yagi, S., Chow, C. y Galea, L.A.M. (2015). Hippocampal learning, memory, and neurogenesis: Effects of sex and estrogens across the lifespan in adults. *Hormones and Behavior*, 74, 37-52. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2015.05.024>
5. Galsworthy, M.J., Paya-Cano, J.L., Liu, L., Monleón, S., Gregoryan, G., Fernandes, C., Schalkwyk, L.C. y Plomin, R. (2005). Assessing reliability, heritability and general cognitive ability in a battery of cognitive tasks for laboratory mice. *Behavior Genetics*, 35, 675-692. <https://doi.org/10.1007/s10519-005-3423-9>
6. Hawley, W.R., Grissom, E.M., Barratt, H.E., Conrad, T.S. y Dohanich, G. P. (2012). The effects of biological sex and gonadal hormones on learning strategy in adult rats. *Physiology & Behavior*, 105, 1014-1020. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.11.021>
7. Hebb, D.O. y Williams, K. (1946). A Method of Rating Animal Intelligence. *The Journal of General Psychology*, 34, 59-65. <https://doi.org/10.1080/00221309.1946.10544520>

8. Hoplight, B.J., Boehm, G.W., Hyde, L.A., Deni, R. y Deneberg, V.H. (1996). A computer-aided procedure for measuring Hebb-Williams Maze performance. *Physiology & Behavior*, 60, 1171-1176. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(96\)00213-2](https://doi.org/10.1016/0031-9384(96)00213-2)
9. Keeley, R.J., Bye, C., Trow, J. y McDonald, R.J., (2015). Strain and sex differences in brain and behaviour of adult rats: Learning and memory, anxiety and volumetric estimates. *Behavioural Brain Research*, 288, 118-131. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.10.039>
10. Kimura, D. (2004). *Sexo y capacidades mentales*. Barcelona: A&M GRÀFIC, S.L.
11. Köpen, J.R., Blankenship, P.A., Blackwell, A.A., Winter, S.S., Stuebing, S.S., Matuszewich, L. y Wallace, D. G. (2015). Comparison of direction and distance estimation across spatial tasks: Absence of sexually dimorphic self-movement cues processing. *Learning and Motivation*, 51, 11-24. <https://doi.org/10.1016/j.lmot.2015.03.001>
12. Locklear, M.N., Kritzer, M.F. (2014). Assessment of the effects of sex and sex hormones on spatial cognition in adult rats using the Barnes maze. *Hormones and Behavior*, 66, 298–308. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2014.06.006>
13. Mahmoud, R., Wainwright, S.R., Galea, L.A.M. (2016). Sex hormones and adult hippocampal neurogenesis: Regulation, implications, and potential mechanisms. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 41, 129–152. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2016.03.002>
14. Meunier, M., Saint-Marc, M. y Destrade, C. (1986). The Hebb-Williams test to assess recovery of learning after limbic lesions in mice. *Physiology & Behavior*, 37, 909-913. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(86\)80011-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(86)80011-7)
15. Monfort, P., Gomez-Gimenez, B., Llansola, M. y Felipe V. (2015). Gender differences in spatial learning, synaptic activity, and long-term potentiation in the hippocampus in rats: molecular mechanisms. *ACS Chemical Neuroscience*, 6, 1420–1427. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.5b00096>
16. Peña, Y., Prunell, M., Rotllant, D., Armario, A. y Escorihuela R.M. (2009). Enduring effects of environmental enrichment from weaning to adulthood on pituitary-adrenal function, pre-pulse inhibition and learning in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology*, 34, 1390-1404. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2009.04.019>
17. Postma, A., Jager, G., Kessels, R.P.C, Koppeschaar, H.P.F. y van Honka, J. (2004). Sex differences for selective forms of spatial memory. *Brain and Cognition*, 54, 24-34. [https://doi.org/10.1016/S0278-2626\(03\)00238-0](https://doi.org/10.1016/S0278-2626(03)00238-0)
18. Pritchett, K. y Mulder, G. (2004) Hebb-Williams mazes. *Contemporary topics in laboratory animal science*, 43, 44-5.
19. Rabinovitch, M. S. y Rosvold, H.E. (1951). A closed-field intelligence test for rats. *Canadian Journal of Psychology/Revue canadienne de psychologie*, 5, 122-128. <https://doi.org/10.1037/h0083542>
20. Rodríguez, C.A., Torres, A., Mackintosh, N.J. y Chamizo, V.D. (2010). Sex Differences in the Strategies Used by Rats to Solve a Navigation Task. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 36, 395-401. <https://doi.org/10.1037/a0017297>
21. Sánchez-Sánchez, I., Sánchez-Marín, F.J. y Sin-Villagomez, R. (2011). Diferencias de género en la orientación espacial en un ambiente virtual. *Revista Mexicana de Psicología*, 28, 211-216.
22. Shore, D.I., Stanford, L., MacInnes, W.J., Raymon, M.K. y Brown, R.E. (2001). Of mice and men: Virtual Hebb-Williams mazes permit comparison of spatial learning across species. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, 1, 83-89. <https://doi.org/10.3758/CABN.1.1.83>
23. Spritzer, M. D., Fox, E.C., Larsen, G.D., Batson, C.G., Wagner, B.A. y Maher, J. (2013). Testosterone influences spatial strategy preferences among adult male rats. *Hormones and Behavior*, 63, 800-812. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2013.03.018>
24. Stanford, L., y Brown, R.E., (2003). MHC-congenic mice (C57BL/6J and B6-H-2K) show differences in speed but not accuracy in learning the Hebb-Williams Maze. *Behavior Brain Research*, 144, 187-197. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(03\)00093-7](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(03)00093-7)
25. Vidal-Infer, A., Aguilar, M.A., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2012). Effect intermittent exposure to ethanol and MDMA during adolescence on learning and memory in adult mice. *Behavior and Brain Functions*, 8, 1-32. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-8-32>
26. Wong-Carriera, A. y Álvarez-González, M.A. (2012). Hormonas, cerebro y conducta. Notas para la práctica de la Psicología en la Endocrinología. *Revista Cubana de Endocrinología*, 24, 1-11.

RECIBIDO: 17/5/2016
 MODIFICADO: 26/9/2016
 ACEPTADO: 3/10/2016

Notas de Autor

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con el Proyecto I+D+i del Ministerio de Económica y Competitividad (MINECO) PSI2015-69649-R.