

Solicitud de Alta como Ayudante de Investigador

Nombre del proyecto de investigación: **Regulación del metabolismo del TRH en los sistemas neuroendocrino y límbico**

Actividades a realizar:

El experimento que realizaré consiste en comparar parámetros conductuales y hormonales en ratas hembras y machos de la cepa Wistar que fueron criadas (desde la pubertad) en cajas con mayor espacio vertical (rejillas altas) y ratas que fueron criadas con tapas estándar. Los animales (16 hembras y 16 machos) arribarán al Bioterio del Instituto de Biotecnología teniendo aproximadamente 5 semanas de edad. Al día de llegada registraré el peso de cada animal. Los animales serán identificados y colocados en cajas de policarbonato (23x47x20 cm³), cuatro animales por caja, dos cajas de cada sexo tendrán rejillas altas y dos rejillas estándar. Se mantendrán en cuartos separados las hembras de los machos, ambos con ciclo de luz de 12 h (luces encendidas a las 7 am) con agua y alimento ad libitum. Se dejarán 10 días sin molestar, permitiendo que se recuperen del estrés de la transportación del sitio del proveedor (Harlan, D.F.) a nuestro bioterio (Cuernavaca). A partir del décimo día de su llegada, se empezará a medir el consumo de alimento por caja y el peso de cada animal cada tercer día. Entre los días 15 y 30 se realizarán las pruebas conductuales del campo abierto (OFT) y laberinto en cruz elevada (EPM) ambas pruebas miden el grado de ansiedad y el ímpetu de exploración en los roedores. Antes y después de cada prueba se obtendrá, por medio de una punción en la cola, sangre para medir el índice glucémico y corticosterona y ACTH. Se analizarán los parámetros conductuales que indiquen ansiedad (conducta en los brazos abiertos del EPM y en la zona centro del OFT) y locomoción/exploración en general (distancia recorrida en los brazos cerrados del EPM y en la zona periférica del OFT). Del día 32 al 39 se monitoreará la actividad locomotora espontánea individual utilizando el sistema "photobeam activity system" ó PAS que consiste en colocar a un animal en una jaula individual por 24 h, el sistema permite cuantificar la locomoción total que haya tenido el animal. Se sacrificará a los animales al menos 10 días después de la última manipulación. Al sacrificio, obtendremos el cerebro, las grasas parda y blanca, los músculos soleo y gastrocnemio, glándulas adrenales, corazón, hígado y sangre troncal. Algunos de estos tejidos se pesan al momento de la disección. La sangre será centrifugada inmediatamente para obtener el suero en donde se medirán: las hormonas corticosterona, ACTH, TSH, hormonas tiroideas, por medio de radioinmunoensayos o por ELISA. Las grasas parda y blanca se almacenarán de dos maneras: la mitad del tejido en formaldehído por 24 y en PBS a 4⁰C y se utilizará para cortes histológicos y tinciones de adipositos y la otra

mitad se congelará en hielo seco y se almacenará a -80°C para realizar RT-PCRs de los genes involucrados en la señalización de hormonas tiroideas.

Vo Bo Dra. Patricia I. Joseph Bravo