

Sesión	Notas/procedimiento
Notas generales	<ul style="list-style-type: none">• Las ratas serán alojadas en jaulas individuales con libre acceso a agua y privadas de alimento al 82-85% de su peso ad libitum.• Los animales serán asignados a los grupos (n=8) en función de su peso corporal, para que el promedio y la variabilidad intra-grupos sea similar.• Habrá grupos de machos y hembras, sometidos a tres condiciones experimentales: 32-2, 32-32 y 2-2. Y sacrificados en diferentes días de la fase de postcambio (sesiones 11, 12, 13 ó 14). En cada grupo habrá 2 animales. N=48, n=2.• PROCEDIMIENTO DE CONTRASTE SUCESIVO NEGATIVO en cajas de consumo (con sacarosa):<ol style="list-style-type: none">1. Las ratas se llevarán al laboratorio en tandas de 8 animales (todas machos o todas hembras). El orden de comienzo de los grupos se cambiará cada día, respetando que siempre pasen primero los grupos 2%, y después los 32% (para que no queden restos de la solución al 32% que puedan beber los grupos 2-2). En los días de postcambio, los grupos 2-2 serán entrenados antes que los 32-2 (para evitar emisión de olores)2. Soluciones de Sacarosa: 32% = 32 gr de azúcar por cada 68 gr de agua destilada (470,58gr de azúcar en 1L) 2% = 2 gr de azúcar por cada 98 gr de agua destilada (20,40 gr de azúcar en 1L)3. El orden de colocación de los tubos con la sacarosa se cambia cada día.4. El criterio de registro de tiempo es desde que la rata da la primera lametada a la boquilla y empieza a beber. SE REGISTRA LA CANTIDAD CONSUMIDA. NO OLVIDAR QUE AL EMPEZAR LA SESIÓN LOS TUBOS DEBEN ESTAR MARCADOS CON CINTA ADHESIVA PARA PODER HACER EL REGISTRO DE CONSUMO.5. Si algún animal no consume nada al cabo de 8 minutos, se saca de la caja, y se le anota 0 en la hoja de registro: el primer día se le puede colocar con un algodón algo de la solución alrededor del agujero por el que asoma la pipeta6. El tiempo para consumo (desde la primera lametada) es de 5 minutos7. Las ratas hembra se marcarán con rotulador ROJO. Las ratas macho se marcarán con rotulador NEGRO. Se marcará el rabo y las cajas.8. Se tomarán medidas diarias del peso del animal, se registrarán los datos de consumo en ml, y se pasarán los datos a un archivo Excel para calcular el consumo en ml/kg

	<p>9. Los animales serán alimentados una vez que concluya la sesión experimental.</p> <p>10. La extracción de los cerebros se hará 90 minutos después de haber concluido la sesión de consumatorio.</p> <p>HORAS APROXIMADAS:</p> <p>TANDA X (n=8). 9:00-9:15----- Se extrae el cerebro a las 10:45</p> <p>TANDA X (n=8). 9:45-10:00 ----- Se extrae el cerebro a las 11:30</p> <p>TANDA X (n=8). 10:30-10:45 ----- Se extrae el cerebro a las 12:15</p> <p>TANDA X (n=8). 11:15-11:30----- Se extrae el cerebro a las 13:00</p> <p>TANDA X (n=8). 12:00-12:15----- Se extrae el cerebro a las 13:45</p> <p>TANDA X (n=8) 12:45-13:00 ----- Se extrae el cerebro a las 14:30</p> <p>TANDAS (Contrabalancearlas cada día, sin meter nunca a las tandas 32 primero):</p> <p>TANDA 1. 32-2/M11 32-2/M11 32-2/M12 32-2/M12 32-2/M13 32-2/M13 32-2/M14 32-2//M14</p> <p>TANDA 2. 32-2/H11 32-2/H11 32-2/H12 32-2/H12 32-2/H13 32-2/H13 32-2/H14 32-2//H14</p> <p>TANDA 3. 32-32/M11 32-32/M11 32-32/M12 32-32/M12 32-32/M13 32-32/M13 32-32/M14 32-32//M14</p> <p>TANDA 4. 32-32/H11 32-32/H11 32-32/H12 32-32/H12 32-32/H13 32-32/H13 32-32/H14 32-32//H14</p> <p>TANDA 5. 2-2/M11 2-2/M11 2-2/M12 2-2/M12 2-2/M13 2-2/M13 2-2/M14 2-2//M14</p> <p>TANDA 6. 2-2/H11 2-2/H11 2-2/H12 2-2/H12 2-2/H13 2-2/H13 2-2/H14 2-2//H14</p>
<p>Día 0: Habitación (13 de octubre)</p>	<p>HABITUACIÓN A LA CAJA DE CONSUMO</p> <ul style="list-style-type: none"> - Se pesa a los animales. - Se colocan por tandas en las cajas de consumo SIN SACAROSA durante 5 minutos
<p>Precambio 1-10 (del 14 al 23 octubre)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Se sacan del frigorífico las soluciones de sacarosa y se preparan los tubos - Se pesan los animales (si da tiempo, si no cada vez que preparemos una tanda)

EXP. 2 → Conectoma de la frustración. CSN (32-2, 32-32-, 2-2). Machos y hembras. c-fos OCTUBRE 2023. REPLICACIÓN 3

	<ul style="list-style-type: none">- Prueba de CSN. Se lleva a los animales en tandas de 8 a la sala convencional y se colocan en las cajas de consumatorio durante 5 minutos. Los días del sacrificio, entre una rata y otra QUE SE VAN A SACRIFICAR EL MISMO DÍA se dejan unos 5 minutos- PRIMERO PASAN LOS DEL 2% (SE ROTAN CADA DÍA); DESPUÉS LOS DEL 32% (SE ROTAN CADA DÍA). VÉASE DOCUMENTO ADJUNTO
Postcambio 11-14 (entre el 24 y el 27 de diciembre)	<ol style="list-style-type: none">1. Prueba de CSN. Se preparan las soluciones de azúcar (32% para el grupo 32-32; 2% para todos los demás). Se lleva a los animales del mismo grupo (se cambiará el orden de los grupos cada día) y se colocan en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada.2. Perfusión. 90 minutos después de haber realizado la prueba consumatoria, se anestesia al animal con un barbitúrico y se realiza la perfusión