

PROSTCOM: un conjunto de programas para registro y procesamiento de datos comportamentales en investigaciones de Fisiología y Farmacología

Carlos Conde¹
Victor Costa¹
Carlos Tomaz²

¹Departamento de Fisiologia, Facultad de Medicina y Laboratorio de Psicobiologia de la Memoria, Facultad de Filosofia Ciencias y Letras, Universidad de São Paulo, Campus Ribeirão Preto, SP.

²Laboratório de Neurobiologia, Universidad de Brasília, C.P. 04631, CEP 70910-900 Brasília, DF, Brasil.

Aceito para publicação em 12/11/99

Resumo

PROSTCOM é um programa de computação de fácil manipulação e de baixo custo que destina-se a análise de dados em diferentes áreas da farmacologia comportamental, psicofisiologia e estudos etológicos. O programa permite o registro e o calculo de frequências, latências, durações e diferentes sequências de comportamentos selecionados. Os dados são armazenados em códigos ASCII os quais permitem a transferência dos arquivos para outros programas de processamento estatístico e gráfico. Apresenta-se um exemplo, utilizando-se o labirinto em cruz elevado, um modelo experimental para o estudo da ansiedade. Os resultados indicam que o PROSTCOM

é uma ferramenta util para investigações em neurociências comportamental.

Unitermos: Medidas comportamentais; programas computacionais; psicofisiologia, farmacologia comportamental.

Summary

PROSTCOM is a low-cost and easy-to-manipulate computer program for analysis in different domains of behavioral pharmacology, psychophysiology, and ethological studies. The program records and calculates the observed frequencies, latencies, duration and different sequences of selected behaviors. The data are stored in ASCII code which allows the transfer of the archives to other statistical software packages for further analysis. A sample, using the elevated plus maze, an experimental model for the testing of anxiety, is presented. The results indicate that PROSTCOM is a useful tool for research in behavioral neuroscience.

Key words: Measuring behavior, software computer, psychophysiology, behavioral pharmacology.

La observación comportamental, dentro del contexto científico, pasa por fases de identificación de variables representativas de los fenómenos que se desea analizar, pasa por la definición clara y precisa de categorías, y necesariamente debe cumplir con criterios de validez, confiabilidad y reproductibilidad dentro del marco en que fue hecha la observación. Todo esto está orientado hacia la solución o esclarecimiento de preguntas e hipótesis predefinidas por el observador (Martin y Batenson, 1987). El éxito de una observación depende esencialmente de la calidad de las características antes anotadas. La rapidez con que un sujeto observado emite comportamientos, o la gran cantidad de comportamientos y variables que se pretende medir durante un período de observación, hacen del registro un problema impor-

tante. Adicionalmente, la cantidad de información colectada por sesión, implica una dificultad para el procesamiento de datos. Es obligatorio que cualquiera que sea el método empleado, el observador deba tener un entrenamiento previo que lo habilite para identificar las variables a ser medidas y lo habilite para realizar un registro con destreza (Martin y Batenson, 1987). En este contexto, PROSTCOM fué elaborado para facilitar el registro y el procesamiento de observaciones comportamentales, con baja exigencia en la habilidad manual o conocimiento de operación de computadores, pero no exime al observador de la necesidad de tener un buen criterio en la selección de variables y en la observación propiamente dicha.

La descripción de los comportamientos, generalmente se encaja dentro de 3 categorías básicas: por estructura, por consecuencia y por relación espacial (Martin y Bateson, 1987). Es posible que una observación utilice de una manera complementaria elementos que pertenecen a diversas categorías, siempre pensando en la mejor forma de representar el fenómeno que se desea estudiar. Dentro de estas categorías, un ítem comportamental puede ser un tipo de acción motora (convulsión tónico-clónica, giros, etc.), la entrada a un lugar, la proximidad entre sujetos o el efecto sobre el ambiente o sobre el propio sujeto observado (apretar una palanca, saltar, realizar una tarea compleja, etc.). Concomitante con esto, los ítems seleccionados y definidos para la observación, ocurren en el tiempo, tienen duraciones, aparecen con determinadas latencias, se relacionan con otros en secuencias significativas o no, pueden ser agrupados por características comunes o no. Todo esto da una visión dinámica del proceso dentro de un contexto experimental o ambiental. La descripción de la evolución de estos ítems y su análisis, permiten una contribución importante a la comprensión de los mecanismos involucrados en el fenómeno estudiado. Las asociaciones fuertes y reproducibles, pueden indicar patrones funcionales que merecen ser investigados en detalle y adicionalmente, por métodos

complementarios a la observación comportamental (Brown, 1969; Fentress, 1973; Kernan et al. 1988; Rodgers y Rosenbrug, 1979; Slater, 1973) .

En el mercado ya existen muchos programas orientados a estos fines, pero generalmente son de alto costo, de difícil operación, o muy rígidos en posibilidades de utilización.

PROSTCOM fue elaborado intentando mantener los elementos fundamentales de observación comportamental y corregir las limitaciones o dificultades que presentan otros programas. En un comienzo, el registro y procesamiento de datos realizados por este programa estaba dirigido a resolver las necesidades para el trabajo con los laberintos en T (Graeff et al., 1993; Viana et al., 1994) y en Cruz elevados (File, 1993; Griebel et al., 1993; Montgomery, 1955; Pellow et al., 1985; Rodgers y Cole, 1994) así como con la arena circular (Candland y Nagy, 1969), más conocida como campo abierto. Posteriormente, fue ampliado de manera que ahora puede ser utilizado en una gran variedad de modelos experimentales y utilizando diferentes especies (incluida la humana) como sujetos de observación. Puede implementarse para registros en tiempo presente y puede utilizarse en la observación de cintas de video.

En este trabajo serán mostrados algunos ejemplos del tipo de procesamiento hecho por el programa, aplicado a experimentos realizados con ratas expuestas a un laberinto en cruz elevado, usado como herramienta para el estudio de ansiedad y de memoria emocional (Brown, 1969; File, 1993; Viana et al., 1994). Los datos aquí mostrados corresponden a experimentos realizados en el laboratorio de psicobiología de la memoria de la Facultad de Filosofía Ciencias y Letras de la Universidad de São Paulo, Campus de Ribeirão Preto, Brasil.

Características técnicas del “PROSTCOM”

Es un conjunto de programas elaborados en GWBASIC, versión 3.2 (1986), que ocupan menos de 250 Kbytes de disco incluyendo el GWBASIC.EXE y pueden ser ejecutados en computadores personales con memoria RAM superior a 640 K. Su presentación está hecha con menús escritos en castellano que orientan al usuario; los archivos son generados en código ASCII y son direccionados por defecto al disco y al directorio que contienen los programas. El esquema de almacenamiento de información en los archivos, permite que sean leídos como tablas en planillas de EXCEL (Windows) o por cualquier otro programa que tenga acceso a ASCII.

Que hace el “PROSTCOM”

Esencialmente, permite crear y manipular bases de datos, y permite procesarlas en el contexto de los elementos de observación comportamental.

Trabajando con base de datos

1) **Crea base de datos:** En este nivel, el usuario puede crear un registro durante la observación directa (en cintas de video o en tiempo real) o puede crear un registro transcribiendo datos ya colectados manualmente. En el primer caso, el observador selecciona las teclas del computador que representaran los items comportamentales, por lo tanto se pueden registrar tantos items como teclas tenga el computador, excepto la letra “X” y la letra “P” que representan respectivamente la finalización manual y una pausa en el registro. PROSTCOM, permite programar el registro para que automáticamente éste sea suspendido en un tiempo predeterminado por el observador. A medida que se aprietan las teclas correspondientes a los items comportamentales que están ocurriendo, el programa utiliza el reloj interno del computador para registrar el tiempo respectivo de cada evento. Cada vez que

se apierta una tecla, el tiempo correspondiente al ítem anterior es cerrado y memorizado automáticamente (Tabla 1).

TABLA 1 – Registro obtenido de una sesión de observación comportamental.

ORDEN DE APARICION	ITEM	TIEMPO
1	2	.6
2	5	1.53
3	6	2.08
4	5	1.53
5	2	1.09
6	1	1.26
7	3	7.03
8	1	2.96
9	2	6.09
10	1	1.09
11	3	5.05
12	1	1.97
13	2	0.98
14	1	1.09
15	3	5.38
16	1	1.75
17	2	4.00
18	5	.71
19	6	.87
20	9	5.71
21	6	1.09
22	5	3.89
23	2	3.95
24	5	2.63
25	2	.76
26	1	1.59
27	3	7.25
28	1	18.01
29	3	110.89
30	1	15.59
31	3	148.68

Corresponde al registro de una sesión de observación de una rata en el laberinto en cruz elevado. Los ítems corresponden a números de lugares dentro del laberinto como aparece en la figura 1. La columna de tiempo muestra los segundos que permaneció el animal en esos lugares. El orden de aparición de los ítems corresponde al orden en que el observador registró los desplazamientos del animal.

Por otra parte, si el usuario ya tiene el registro comportamental obtenido por métodos manuales, PROSTCOM permite abrir una base de datos con los items y/o los tiempos correspondientes para luego ser procesados por las opciones de cálculos que él ofrece.

2) Revisión y corrección de archivos: Una vez creado un archivo de observación, él puede ser corregido en cada uno de sus items, en los tiempos asociados y el nombre de cada archivo.

3) Comparación de archivos: PROSTCOM permite, almacenar un archivo como "diccionario" de referencia comportamental para después servir como parámetro de comparación de un registro de observación. Esto permite estimar el grado de utilización de los comportamientos del "diccionario", la proporción de items usados no reconocidos por el "diccionario", la habilidad del observador para reconocer los items y para usar dicho programa; adicionalmente, esta opción permite comparar *grasso modo* los registros obtenidos por diferentes observadores a partir de un mismo experimento.

Procesando datos

1) Crea archivos nuevos a partir de un original ya registrado por PROSTCOM. Algunas modalidades posibles bajo esta alternativa son (ver Tabla 2):

a) Agrupa diferentes items en una nueva categoría, remplazando los originales por la nueva condición.

b) Subdivide el archivo original del registro comportamental de una sesión de observación, en nuevos archivos que contengan períodos parciales del primero. Los períodos escogidos para dividir el archivo original pueden ser regulares o irregulares, utilizando valores de tiempo absoluto o valores de tiempo relativos; todos seleccionados por el observador.

c) Agrupa items consecutivos iguales: Frecuentemente, el observador registra dos o más veces consecutivas el mismo item, ésto podría implicar que el sujeto experimental permaneció realizando el mismo comportamiento, por tanto, el programa los puede

agrupar en uno solo incluyendo también en un solo valor de tiempo lo que antes estaba fraccionado.

TABLA 2 – Descripción de tiempos de permanencia y frecuencias de entradas de una rata en diferentes lugares de un laberinto en cruz elevado.

SESION		S1		PERIODO 10					
ITEM	TP	TP%	TP.AC	TP.AC%	FP	FP%	FP.AC	FP.AC%	
1	12.91	2.36	12.91	2.36	6.78	10.37	6.78	10.37	
2	8.20	1.48	8.20	1.48	5.78	8.46	5.78	8.46	
3	21.25	4.28	21.25	4.28	3.56	5.95	3.56	5.95	
4	1.15	0.18	1.15	0.18	0.67	0.78	0.67	0.78	
5	6.80	1.16	6.80	1.16	2.78	3.60	2.78	3.60	
6	0.75	0.16	0.75	0.16	0.44	0.63	0.44	0.63	
7	2.01	0.33	2.01	0.33	0.33	0.42	0.33	0.42	
9	0.38	0.05	0.38	0.05	0.11	0.10	0.11	0.10	

SESION		S2		PERIODO 10					
ITEM	TP	TP%	TP.AC	TP.AC%	FP	FP%	FP.AC	FP.AC%	
1	16.45	2.77	16.45	2.77	4.78	11.66	4.78	11.66	
2	3.16	0.59	3.16	0.59	2.44	6.17	2.44	6.17	
3	42.70	6.64	42.70	6.64	2.78	7.47	2.78	7.47	
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

SESION		S1		PERIODO 100					
ITEM	TP	TP%	TP.AC	TP.AC%	FP	FP%	FP.AC	FP.AC%	
1	9.51	1.32	109.44	18.75	0.44	0.61	21.22	30.58	
2	0.00	0.00	38.50	6.33	0.00	0.00	14.00	19.00	
3	43.96	8.68	350.56	68.85	1.11	2.08	18.00	31.76	
4	0.00	0.00	3.06	0.47	0.00	0.00	2.56	2.98	
5	0.00	0.00	18.10	3.07	0.00	0.00	7.67	9.83	
6	0.00	0.00	2.25	0.42	0.00	0.00	2.22	2.91	
7	0.00	0.00	7.12	1.14	0.00	0.00	1.33	1.61	
9	0.00	0.00	5.60	0.97	0.00	0.00	1.11	1.33	

SESION		S2		PERIODO 100					
ITEM	TP	TP%	TP.AC	TP.AC%	FP	FP%	FP.AC	FP.AC%	
1	4.44	0.59	70.38	10.12	0.22	0.38	14.22	31.81	
2	0.00	0.00	14.43	2.25	0.00	0.00	7.67	17.16	
3	57.87	9.41	533.31	86.78	1.22	3.59	15.56	44.51	
4	0.00	0.00	0.57	0.09	0.00	0.00	0.33	0.76	
5	0.00	0.00	2.51	0.36	0.00	0.00	1.56	3.24	
6	0.00	0.00	0.58	0.13	0.00	0.00	0.67	1.48	
7	0.00	0.00	0.33	0.08	0.00	0.00	0.11	0.30	
9	0.00	0.00	0.98	0.20	0.00	0.00	0.33	0.74	

En este ejemplo el experimentador pidió al programa que dividiera en períodos regulares dos sesiones experimentales (S1 y S2) de una rata en el laberinto en cruz elevado. Cada período corresponde al 10% del tiempo total del experimento (la duración de la sesión para cada animal fué variable y limitada por la implementación de un criterio de adquisición de información). Pidió también que realizara los cálculos reportados aquí mostrados. Como ejemplo, la tabla registra los datos de los períodos 10 y 100 de cada sesión (primero y último períodos de cada sesión). TP = Tiempo de permanencia en el período (en segundos). TP% = Tiempo de permanencia relativo en cada lugar durante el período analizado. TPAC = Tiempo de permanencia en cada lugar acumulado hasta ese período (segundos). TPAC% = Tiempo de permanencia relativo acumulado en cada lugar hasta el período analizado. FP, FP%, FPAC y FPAC% muestran las frecuencias de entradas en los lugares allí indicados y la nomenclatura es equivalente a la de los tiempos antes definidos.

2) Localiza items comportamentales dentro de un archivo, muestra sus tiempos correspondientes y el tiempo del experimento en que ocurrió dicho evento, esto en valores absolutos y relativos.

3) Calcula la frecuencia y el tiempo acumulado para cada item, tanto al final de la observación como durante la evolución de los mismos durante el registro (ver Tabla 3).

TABLA 3 – Frecuencias y tiempos asociados a items comportamentales en dos sesiones de observación del mismo animal.

ARCHIVO=		NA0S1.RFT		
ITEM	F.ABS	F.REL	T.ABS	T.REL
2	7.00	22.58	17.47	4.76
5	5.00	16.13	10.29	2.80
6	3.00	9.68	4.04	1.10
1	9.00	29.03	45.31	12.34
3	6.00	19.35	284.28	77.44
9	1.00	3.23	5.71	1.56

ARCHIVO=		NA0S2.RFT		
ITEM	F.ABS	F.REL	T.ABS	T.REL
2	10.00	27.03	12.29	1.12
1	17.00	45.95	93.06	8.47
3	10.00	27.03	993.55	90.41

Muestra el resultado de calcular las frecuencias absolutas (F.ABS), las frecuencias relativas (F.REL), los tiempos absolutos (T.ABS) y los tiempos relativos (T.REL) acumulados en cada lugar del laberinto (ITEM) al final de la observación de dos sesiones experimentales (NA0S1.RFT = sesión 1 y NA0S2.RFT = sesión 2) de una misma rata. Note que en la segunda sesión no aparecen todos los items que aparecen en la primera, ésto se debe a que el animal no entró en todos los lugares en la segunda sesión.

4) Contabiliza secuencias simples de pares de items comportamentales con sus respectivas latencias; esto es, informa cuantas veces (valores absolutos y proporcionales) un item determinado aparece antes de otro también determinado; muestra el tiempo de permanencia acumulado en el primer item estando asociado al segundo.

5) Localiza secuencias complejas de más de dos items comportamentales las cuales son escogidas por el observador; incluye los tiempos asociados, discriminando el valor para cada componente de la secuencia, mostrando el valor acumulado de esa secuencia e indicando el tiempo de la observación a la cual apareció cada vez dicha secuencia (Tabla 4).

TABLA 4 – Localización y descripción de una secuencia de tres items comportamentales en una sesión de observación de una rata en el laberinto en cruz elevado.

Archivo: NAOS1					
SECUENCIA = 1 - 2 - 1					
REPETICIONES DE LA SECUENCIA = 2					
T.ABS	T.REL	TT.SEC	T.C/U		
15,12	0,041	10,14	2,96	6,09	1,09
30,31	0,083	14,18	1,97	0,98	1,09

Aquí se muestra cómo es informada una secuencia "compleja" (más de dos items consecutivos) de ubicación de una rata dentro del laberinto en cruz elevado. El investigador pidió localizar cuándo y cómo la rata realizó la secuencia 1-2-1 (correspondiendo a los lugares del laberinto) en una sesión experimental dada. El resultado muestra qué ocurrió en dos ocasiones, cuánto tiempo absoluto en segundos, (T.ABS) y cuánto tiempo relativo (T.REL) había transcurrido del experimento cada vez; así como la duración de la secuencia (TT.SEC) y los tiempos discriminados por cada lugar dentro de cada secuencia (T.C/U).

Después de realizado cada cálculo, se ofrece la opción de crear archivos con cada procesamiento que pueden ser leídos por cualquier programa con acceso a ASCII para su procesamiento estadístico o gráfico.

A manera de ejemplo

Las tablas 1 a 4, muestran los registros y algunos de los procesamientos realizados por "PROSTCOM" a partir de experimentos realizados con ratas en el laberinto en cruz elevado.

La figura 1 muestra una representación esquemática de un laberinto en cruz elevado, con divisiones virtuales hechas sobre la proyección de la imagen de un experimento en una pantalla de televisión. Cada vez que el animal del experimento, entra con las 4 patas en una de éstas zonas, el observador aprieta la tecla equivalente al número que la representa, así, al final de la observación, el programa genera un archivo secuencial de entradas en los diferentes lugares del laberinto, y otro con cada tiempo de permanencia en los mismos (ver Tabla 1). Este tipo de abordaje, correspondería a la categoría de relación espacial, donde cada item comportamental corresponde a cada entrada que hace el animal en cada lugar virtual del laberinto.

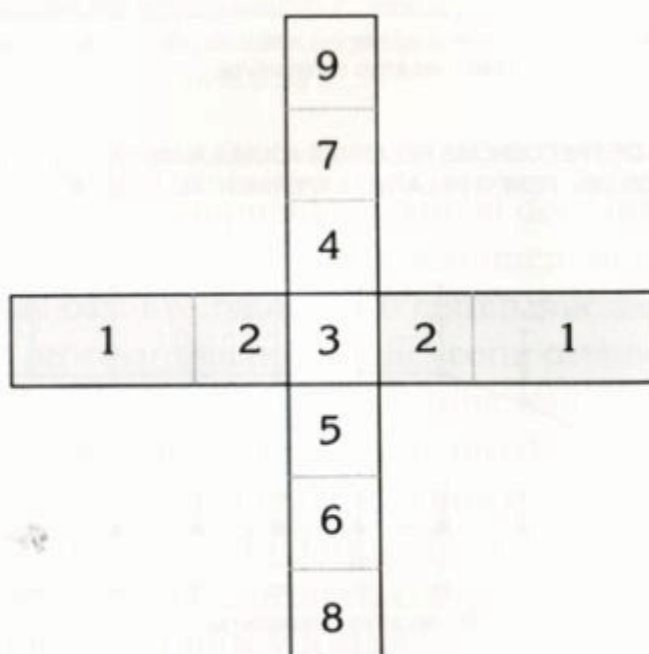
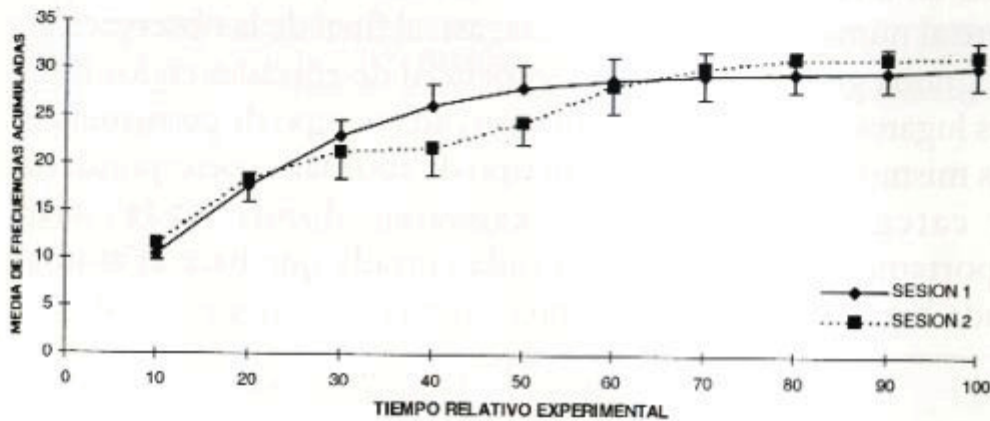


FIGURA 1: Representación de un esquema del laberinto en cruz elevado con divisiones virtuales

Una vez realizado el registro de los desplazamientos del animal por los diversos lugares del laberinto, se le pide al programa que realice el tipo de procesamiento ilustrado en las tablas.

Las figuras 2 y 3 mostradas a continuación son un ejemplo del resultado que puede obtenerse cuando otro programa, con capacidades gráficas, lee directamente los archivos con los valores numéricos procesados por "PROSTCOM".

EVOLUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS ACUMULADAS EN EL LUGAR 1 EN FUNCION DEL TIEMPO RELATIVO EXPERIMENTAL. SESIONES 1 Y 2



EVOLUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS ACUMULADAS EN EL LUGAR 7 EN FUNCION DEL TIEMPO RELATIVO EXPERIMENTAL. SESIONES 1 Y 2

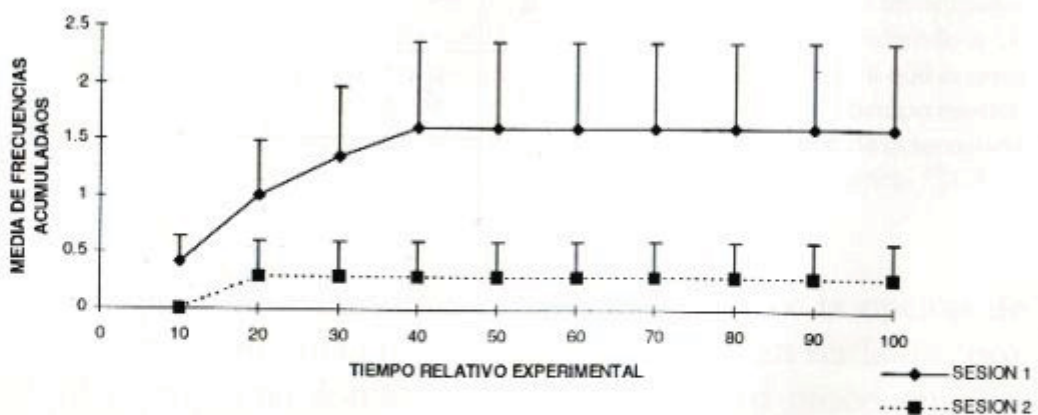


FIGURA 2- Las figuras elaboradas en EXCEL 3.1, son traídas como ejemplo del resultado de importar los resultados procesados por "PROSTCOM" de 10 ratas expuestas al laberinto en cruz elevado. Los datos aquí usados provienen de un cálculo semejante al ilustrado en la Tabla 2.

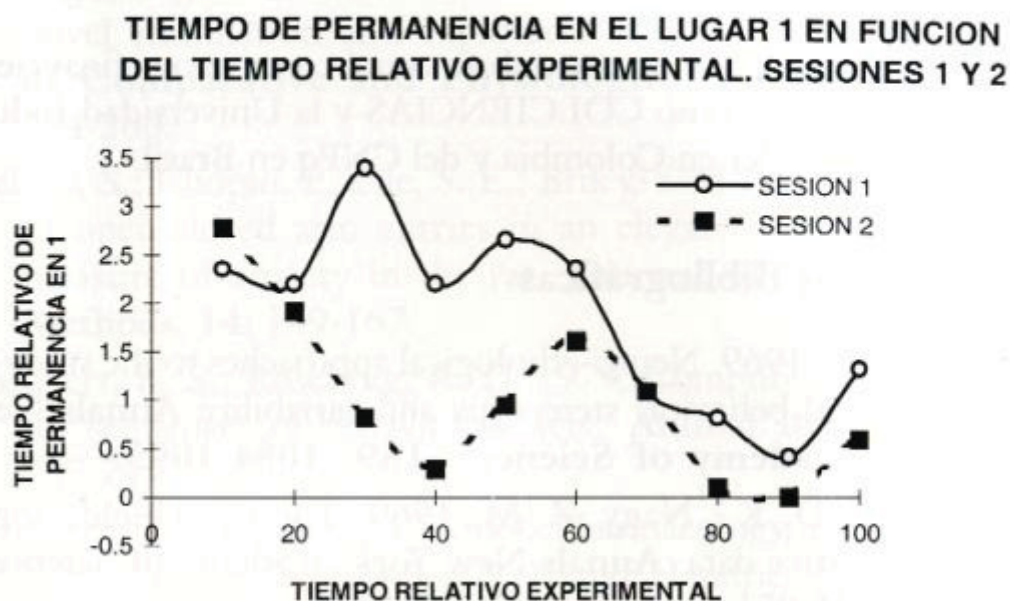


FIGURA 3: Este es otro ejemplo del tipo de procesamiento gráfico realizado a partir de la importación de datos a EXCEL 3.1. La gráfica muestra el comportamiento de las medias de los tiempos relativos de permanencia en el lugar 1 del laberinto en función del tiempo relativo experimental de dos sesiones experimentales de las mismas ratas. Los datos originales fueron obtenidos de un procesamiento como el mostrado en la tabla 2.

Programas de computador como el descrito aquí, facilitan el registro de observaciones comportamentales o etológicas; requieren muy baja inversión, poco entrenamiento y permiten al investigador procesar muchos detalles comportamentales a partir del registro descriptivo secuencial de una sesión de observación. El tipo de posibilidades de procesamiento de datos aquí contemplados, permite explorar rápida y fácilmente, la evolución de las variables de interés a lo largo de una o varias sesiones experimentales; por tanto, facilita la comprensión de cómo ocurren los fenómenos observados y fortalece los abordajes descriptivos simples. "PROSTCOM" está disponible sin costo económico para las instituciones o laboratorios que lo soliciten a la dirección de los autores.

Reconocimientos

La elaboración de este trabajo contó con el apoyo financiero de instituciones como COLCIENCIAS y la Universidad Industrial de Santander en Colombia y del CNPq en Brasil.

Referencias Bibliográficas

- Brown, J. L. 1969. Neuro-ethological approaches to the study of emotional behavior: stereotypy and variability. **Annals New York Academy of Sciences**, **159**: 1084-1095.
- Candland, D. K.; Nagy, Z. M. 1969. The open field: some comparative data. **Annals New York Academy of Sciences**, **159**: 831-851.
- Fentress, J. C. 1973. Specific and nonspecific factors in the causation of behavior. *In*: Bateson, P. P. G. and Klopfer, P. H. (eds.) **Perspectives in ethology**. Plenum-Press, New York-London, p. 155-224.
- File S. E. 1993. The interplay of learning and anxiety in the elevated plus-maze. **Behavioural Brain Research**, **58**: 199-202.
- Graeff, F. G.; Viana, M.; Tomaz, C. 1993. The elevated T maze, a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**, **26**: 1-4.
- Griebel, G.; Moreau, J.; Jenck, F.; Martin, R. J.; Misslin, R. 1993. Some critical determinants of the behaviour of rats in the elevated plus-maze. **Behavioural Processes**, **29**: 37-48.
- Kernan, J. W. J.; Mullenix, P. J.; Kent, R. 1988. Analysis of the time distribution and sequence of behavioral acts. **International Journal Neuroscience**, **43**: 35-51.
- Martin, P.; Bateson, P. 1987. **Measuring behavior**. Cambridge University Press, Cambridge, 386 pp.

- Montgomery, K. C. 1955. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior, **The Journal of Comparative and Physiological Psychology**, **48**: 254-260.
- Pellow, S.; Chopin, P.; File, S. E.; Briley, Y. M. 1985. Validation of open-closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, **14**: 149-167.
- Rodgers, R. S.; Rosebrug, R. D. 1979. Computing a grammar for sequences of behavioural acts. **Animal Behavior**, **27**: 737-749.
- Rodgers, R. J.; Cole, J. C. 1994. Pharmacology, methodology and ethology. *In*: Cooper, S. J. and Hendrie, C. A. (eds.). **Ethology and psychopharmacology**. John Wiley and Sons, p. 10-44.
- Slater, P. J. B. 1973. Describing sequences of behavior. *In*: Bateson, P. P. G. and Klopfer, P. H. (eds.) **Perspectives in ethology**. Plenum-Press, New York-London, p. 131-153.
- Viana, M. B.; Tomaz, C.; Graeff, E. G. 1994. The elevated T-maze: a new animal model of anxiety and memory. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, **49**: 549-554.