

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Doctorado en Neurociencias



Tesis para optar por el título de Doctora en Neurociencia

Evaluación del aprendizaje contextual en ratas infantes pre-destetadas en un modelo de condicionamiento operante

Postulante: Lic. Estefanía Orellana Barrera

Directora: Dra. Paula Abate

Co-Directora: Dra. Felisa González Reyes

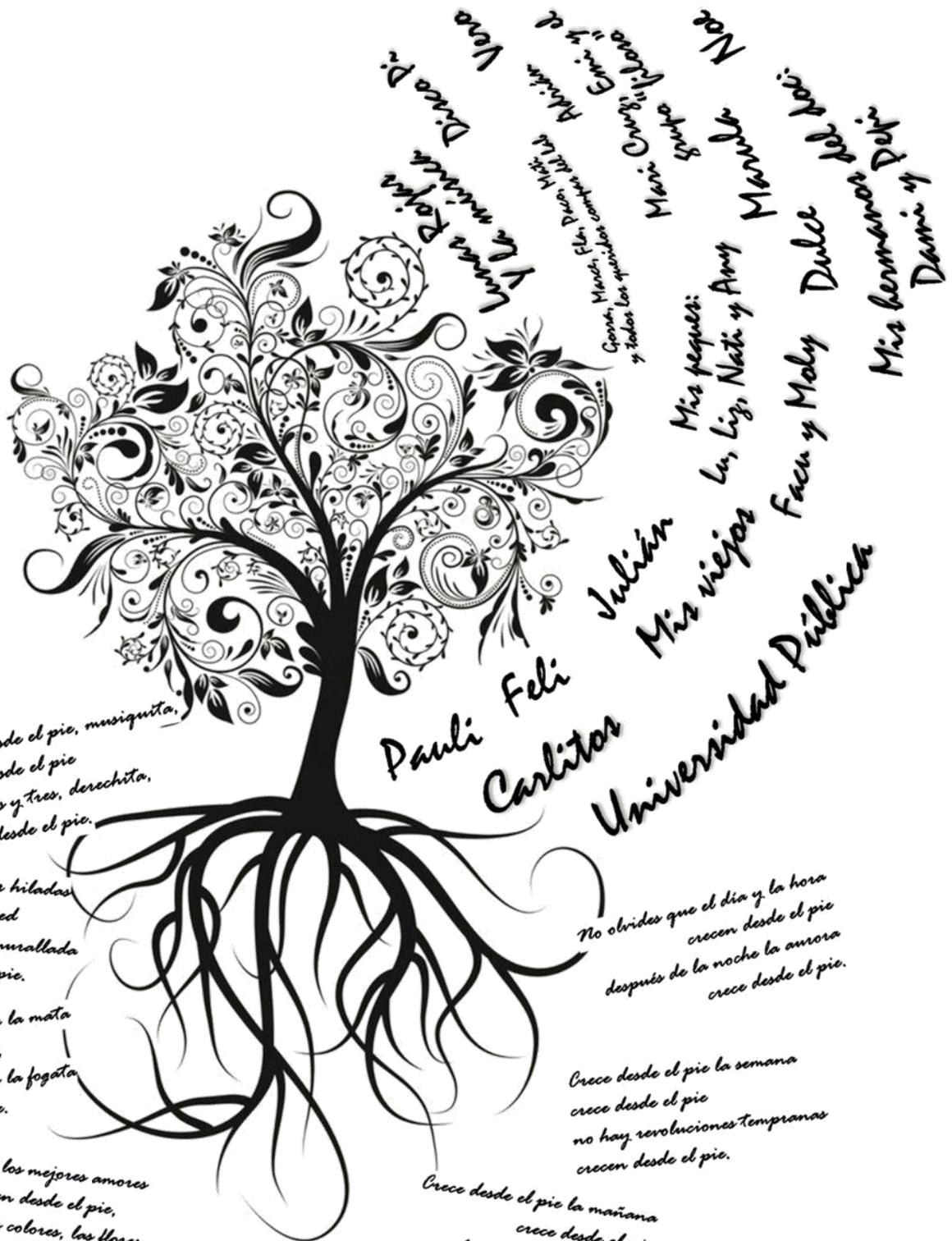
Córdoba, 2017

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	4
RESUMEN	5
ANTECEDENTES	7
1. Origen y evolución de la noción de sistemas de memoria: completando el rompecabezas de la ontogenia	7
A. La inauguración de la era moderna de investigación en memoria: Caso H.M.	7
B. Surgimiento de la noción de Múltiples sistemas de memoria	8
C. El desarrollo ontogenético de los múltiples sistemas de memoria	10
2. Perspectiva actual sobre los procesos de memoria explícita durante la infancia	15
A. Perspectiva Neuromadurativa de la memoria	15
B. Críticas a la perspectiva neuromadurativa	18
3. El aprendizaje contextual como forma de memoria explícita	22
A. Definición de contexto	23
B. El aprendizaje contextual en ratas infantiles	24
C. Efecto de cambio de contexto	27
D. Paradigmas de interferencia dependientes de contexto: el caso de la extinción	27
4. Una perspectiva ecológica para pensar el desarrollo ontogenético y la memoria	29
5. Condicionamiento operante en ratas infantiles: el modelo de auto-administración del reforzador	31
OBJETIVOS	36
Objetivo general	37
Objetivos específicos	37
MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES	38
PRIMERA PARTE: AJUSTE DE LOS ASPECTOS PARAMÉTRICOS	42
Experimento 1: Elección de reforzador	42

Experimento 2: separación materna y volumen de reforzador administrado durante el condicionamiento	48
SEGUNDA PARTE: APRENDIZAJE CONTEXTUAL DURANTE LAS FASES DE ADQUISICIÓN Y EXTINCIÓN	54
Experimento 3: Exposición no reforzada al contexto	55
Experimento 4A: Cambio de contexto durante la prueba	61
Experimento 4B: Cambio de contexto empleando un criterio de ajuste al consumo del reforzador	67
Experimento 4C: Cambio de contexto durante la extinción y renovación de la respuesta extinguida	72
Experimento 5: Exposición no reforzada al contexto posterior al entrenamiento	77
Experimento 6: Cambio de contexto y renovación a las 48 horas	83
Experimento 7: Restablecimiento de la respuesta extinguida	88
Experimento 7A: Restablecimiento AAAA	88
Experimento 7B: Restablecimiento AB BB	92
Experimento 8: Dependencia contextual del recordatorio	97
Experimento 8A: Exposición no reforzada al contexto del restablecimiento	98
Experimento 8B: Recordatorio en contexto diferente	102
DISCUSIÓN FINAL	107
1. Desarrollo del modelo operante: Aspectos paramétricos	107
2. Aprendizaje contextual durante la fase de adquisición	110
3. Aprendizaje contextual durante la fase de extinción	113
4. Una aproximación desde el modelo ecológico	119
REFERENCIAS	123

AGRADECIMIENTOS



Crece desde el pie, musiquita,
 crece desde el pie
 uno dos y tres, derechita,
 crece desde el pie.

Crece la pared por hiladas
 crece la pared
 crece desde el pie amarrada
 crece desde el pie.

Dentro de su lata la mata
 crece desde el pie,
 crece desde el pie la fogata
 crece desde el pie.

Crece los mejores amores
 crecen desde el pie,
 para sus colores, las flores
 crecen desde el pie.

Crece desde el pueblo el futuro
 crece desde el pie,
 ánima del rumbo seguro
 crece desde el pie.

Cantan para usted los cantores
 crecen desde el pie
 un poco de fe y los tambores
 pueden florecer.

No olvides que el día y la hora
 crecen desde el pie
 después de la noche la aurora
 crece desde el pie.

Crece desde el pie la semana
 crece desde el pie
 no hay revoluciones tempranas
 crecen desde el pie.

Crece desde el pie la mañana
 crece desde el pie
 el sonido de la campana
 crece desde el pie.

Pauli Feli
 Carlitos

Julian
 Mis viejas
 Universidad Pública

Mis peques:
 Luz, Lizi, Nati y Amy

Facu y Moly
 Dulce

Mis hermanas
 Dami y

Vera
 Diana P.
 Yana Rojas
 Y la mamá
 Gloria, María, Fátima, María, María
 y todos los queridos
 María
 Noe
 María
 Mis hermanas
 Dami y

Alfredo Zitarrosa

RESUMEN

El estudio del aprendizaje y la memoria durante la infancia ha generado una interesante discusión en el campo de la psicobiología del desarrollo. Para algunos autores, la infancia es concebida como una etapa de inmadurez que se caracteriza por la imposibilidad de mostrar muchas de las capacidades que se suponen son complejas y por lo tanto propias de los organismos adultos ya desarrollados. Entre estas capacidades puede señalarse el tipo de memoria explícita, que se manifiesta, entre otras formas, a través del aprendizaje de contexto.

Para los autores enmarcados en la *perspectiva neuromadurativa*, los infantes son incapaces de adquirir y retener información del contexto. Asimismo, también postulan que el proceso de extinción, que es ampliamente reconocido como un nuevo aprendizaje dependiente de contexto en organismos adultos, implica un borrado de la memoria original en organismos infantes. De acuerdo con esta perspectiva, las diferencias ontogenéticas reportadas se deben a la maduración tardía de las estructuras nerviosas implicadas en el procesamiento de la memoria explícita, particularmente el hipocampo, estructura que sería funcional hacia el final del primer año de vida en infantes humanos y a partir del día post-natal 23 en ratas infantes.

Sin embargo, una corriente teórica alternativa, la cual puede denominarse *perspectiva ecológica*, postula que los organismos infantes no pueden concebirse como organismos inmaduros que carecen de capacidades, sino que deben pensarse como organismos diferentes a los adultos, con características propias de su etapa ontogenética que les permiten interactuar de forma adaptativa con su medio. De acuerdo con esta visión, el estudio de los procesos de memoria y aprendizaje durante la infancia debe contemplar las capacidades sensoriales y motoras de cada etapa del desarrollo para poder responder adecuadamente respecto a qué es lo que aprende el infante. Siguiendo esta perspectiva muchos investigadores han reportado que los infantes son capaces de aprender de las claves del contexto, así como recuperar la respuesta extinguida.

Sin embargo, los trabajos destinados a indagar respecto a la capacidad de aprendizaje contextual en ratas infantas se ha caracterizado por el uso de modelos de condicionamiento de miedo empleando choques eléctricos como estímulos aversivos. El presente trabajo doctoral tiene como objetivo principal explorar la capacidad de aprendizaje contextual que poseen ratas infantas, pero se emplea en este caso un paradigma de condicionamiento operante con reforzadores apetitivos, abordando la pregunta desde una perspectiva ecológica. Utilizando este modelo, se indaga respecto al aprendizaje del contexto durante la adquisición de la respuesta operante como durante su extinción. Para el primer caso se utilizan manipulaciones como la exposición no reforzada al contexto o el cambio de contexto al momento de la prueba, siguiendo la hipótesis de que si los sujetos son capaces de aprender respecto de las claves de su contexto y utilizan esta información para responder a su ambiente, estas intervenciones reducirán el nivel de respuesta al momento de la prueba. Respecto a la extinción, no sólo se estudia la capacidad de recuperar la respuesta extinguida empleando un procedimiento de renovación y restablecimiento de la respuesta, sino que se indaga sobre la dependencia contextual de estos fenómenos.

Los diferentes experimentos dan cuenta de que las ratas infantas son capaces de aprender una tarea operante y de valerse de las claves del contexto para recuperar este aprendizaje tanto al momento de la prueba como posterior a la extinción. Estos resultados, sumados a los reportados por otros autores pueden tomarse como evidencia a favor de que los organismos infantas son capaces de expresar aprendizajes vinculados con el sistema de memoria explícita y que resulta indispensable considerar las capacidades propias de cada etapa del desarrollo ontogenético si se desea abordar estos fenómenos de forma adecuada.

ANTECEDENTES

1. ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE LA NOCIÓN DE SISTEMAS DE MEMORIA: COMPLETANDO EL ROMPECABEZAS DE LA ONTOGENIA

A. LA INAUGURACIÓN DE LA ERA MODERNA DE INVESTIGACIÓN EN MEMORIA: CASO H.M.

A mediados del Siglo XX un caso clínico será de gran relevancia para el estudio de la memoria y su construcción teórica, dando lugar a “*la era moderna de la investigación sobre la memoria*” (Squire, 2009, p. 2). En 1955, la neuropsicóloga Brenda Milner inicia el estudio de un caso de amnesia anterógrada en un paciente que años después sería ampliamente reconocido como H.M. (Scoville & Milner, 1957). H.M había sufrido una intervención quirúrgica a la edad de 27 años con el fin de controlar los severos ataques epilépticos que padecía desde los 10 años tras un accidente con su bicicleta. En 1953, fue el neurocirujano William Scoville quien le realizó la resección bilateral del lóbulo temporal medial. Si bien esta intervención redujo los ataques epilépticos, produjo una profunda alteración en su capacidad para almacenar nueva información vinculada a su vida cotidiana, como recordar personas que recién conocía, aprender una ruta para llegar a un nuevo lugar o leer una revista varias veces sin un sentido de familiaridad. A pesar de estas limitaciones se observó que las memorias previas a la cirugía permanecieron intactas (Richmond & Nelson, 2007).

“Antes de H.M., debido particularmente a la influencia de Karl Lashley, se pensaba que las funciones de la memoria estaban ampliamente distribuidas en la corteza y que se encontraban integradas con las funciones perceptuales e intelectuales. Los hallazgos de H.M. establecieron el principio fundamental de que la memoria es una función cerebral distinta, separada de otras habilidades cognitivas y perceptuales, e identificaron la región medial del lóbulo temporal como importante para la memoria. La implicación fue que el cerebro tiene en alguna medida separadas las funciones perceptuales e intelectuales de su capacidad de poner en la memoria los registros que

ordinariamente resultan de la participación del trabajo perceptual e intelectual” (Squire, 2009, p. 9).

B. SURGIMIENTO DE LA NOCIÓN DE MÚLTIPLES SISTEMAS DE MEMORIA

A pesar de la profunda amnesia que expresaba H.M, diferentes estudios demostraron que bajo ciertas condiciones su capacidad de aprendizaje permanecía intacta (Corkin, 2002). La primera evidencia en este sentido se obtuvo cuando Milner evaluó la adquisición de una habilidad visomotora. Empleó una prueba que se basaba en ejecutar el seguimiento de líneas punteadas que formaban una estrella de cinco puntas, mirando la mano en el reflejo que devuelve un espejo (Squire, 2009). H.M. adquirió esta habilidad durante diez ensayos y retuvo este aprendizaje durante 3 días. Sin embargo, al final de la prueba, no recordaba haberla hecho antes.

Resultados similares se encontraron en pacientes que sufrían el Síndrome de Korsakoff, una enfermedad debida al déficit en la vitamina B1 que se genera por un consumo excesivo de alcohol y produce problemas amnésicos y alteraciones diencefálicas, así como en otros casos clínicos como el de N.A. (Cohen & Squire, 1980). Estos datos condujeron a pensar que existían tipos de memoria (como las habilidades motoras) que debían ser soportadas por áreas cerebrales diferentes al lóbulo temporal medial. Estos datos se transformaron en evidencia de que el hipocampo es necesario para la formación de memorias a largo plazo que requieren conocimiento y conciencia del episodio, pero no es necesario para la formación de la memoria a largo plazo de tareas motoras.

Posteriormente se observó que habilidades no motoras, como las cognitivas y perceptuales, también se encontraban conservadas. Parecía que los pacientes eran capaces de aprender a codificar reglas o procedimientos para adquirir diferentes habilidades, aunque no podían recordar la información generada por la aplicación de esas reglas. Esto condujo a Cohen and Squire (1980) a proponer una disociación entre dos sistemas de memoria diferentes en función de la naturaleza de la información. Un sistema “encargado” de operaciones basadas en reglas o

procedimientos (recordar el “cómo”), y otro sistema de memoria basado en operaciones que dependen de datos, hechos y eventos (recordar el “qué”). Conforme la investigación avanzó se identificaron otras formas de memoria, lo que llevó a pensar en múltiples sistemas de memoria, y se acuñaron dos términos para dar cuenta de esta variedad. La *memoria explícita o declarativa* es el tipo de memoria que implica un reconocimiento o recuerdo consciente sobre hechos y acontecimientos experimentados, y que es dependiente del lóbulo temporal medial (incluyendo hipocampo y corteza parahipocampal). La *memoria implícita o no declarativa* engloba diferentes sistemas de memoria que se vinculan con el aprendizaje de habilidades, aprendizaje de hábitos, condicionamientos simples, aprendizajes emocionales, aprendizajes perceptuales y tareas de facilitación (“priming”). Se reconocieron como estructuras cerebrales fundamentales para el soporte de este tipo de memoria a los ganglios basales, el cerebelo, la amígdala y la neocorteza (Bauer, 2008; Richmond & Nelson, 2007; Squire, 2009).

En resumen, la evidencia de la conservación de diferentes habilidades mnésicas en pacientes amnésicos como H.M. condujo a suponer que la memoria no era una facultad única y motivó la identificación de los múltiples sistemas de memoria en el cerebro de los mamíferos (Squire, 2009). Por otro lado, casos como los de H.M. fueron los que guiaron el supuesto de que estructuras del lóbulo temporal medial (particularmente el hipocampo) eran fundamentales para la formación de nuevas memorias explícitas a largo plazo. Posteriormente, el desarrollo de modelos animales confirmó la participación principal del hipocampo en la formación de nuevas memorias (Mishkin, Spiegler, Saunders, & Malamut, 1982; Squire & Zola-Morgan, 1983), y actualmente la participación del hipocampo se sostiene por numerosos estudios de neuroimagen (Bauer, 2008). La clasificación en múltiples sistemas de memoria, construida a partir de casos clínicos y estudios en animales, se enmarcó en una perspectiva biológica que facilitó la enumeración de tipos de memorias junto con las estructuras cerebrales que las soportaban (Figura 1, extraída de Squire & Zola, 1996).

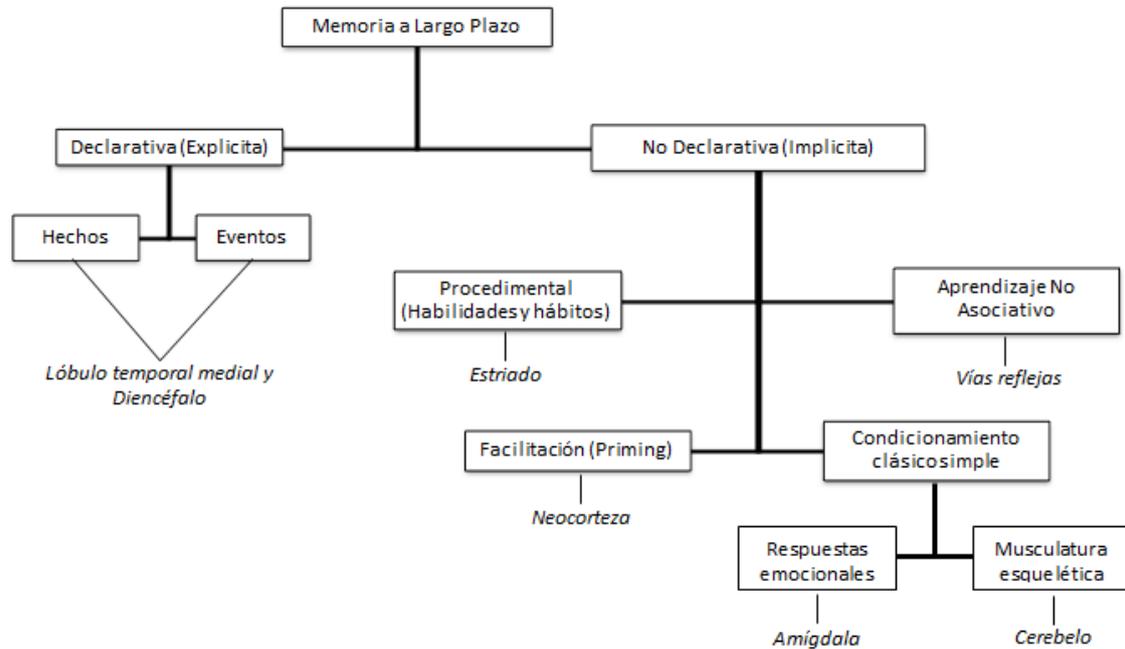


Figura 1. Taxonomía de los sistemas de memoria a largo plazo y su correlato nervioso. Extraído de Squire & Zola, 1996.

Esta propuesta teórica, es decir que el daño del hipocampo compromete ciertos procesos mnésicos mientras que otros permanecen conservados, y que el sistema de memoria que está deteriorado involucra la representación de recuerdos conscientes, pasa a ser la visión dominante en el programa de investigación de memoria en sujetos adultos. Esto ocurrió, entre otras cosas, porque proporcionaba un marco biológico útil a partir del cual la memoria, a lo largo de una variedad de tareas diferentes, de poblaciones y especies, podría clasificarse utilizando un conjunto similar de criterios concretos (Mullally & Maguire, 2014).

C. EL DESARROLLO ONTOGENÉTICO DE LOS MÚLTIPLES SISTEMAS DE MEMORIA

Una vez que los múltiples sistemas de memoria fueron propuestos como forma de organización de la función mnésica, algunos psicólogos del desarrollo comenzaron a preguntarse respecto a la maduración ontogenética de dichos sistemas. Dado que se asume que los diferentes sistemas de memoria son soportados por el funcionamiento de determinadas estructuras cerebrales, surge la inquietud respecto de si estos sistemas se desarrollan de forma diferencial

conforme maduran las estructuras cerebrales específicas (Hayne, 2004; Richmond & Nelson, 2007).

En la década de 1980, y fruto de los avances obtenidos en estudios con sujetos adultos, los trabajos destinados a abordar la ontogenia de los sistemas de memoria fueron en aumento y se publicaron varios análisis al respecto. Un documento que será clave en el desarrollo del programa de investigación sobre la ontogenia de la memoria es el capítulo de libro escrito por Schacter and Moscovitch (1984). Estos autores postularon que los dos sistemas de memoria maduran de forma secuencial a lo largo del desarrollo. Retomaron la explicación jacksoniana de la función mnésica que postula que el primer sistema de memoria que se desarrolla durante la temprana ontogenia es el último que se pierde durante la vejez o en casos de daños, como por ejemplo los casos de amnesia, mientras que el sistema que madura tardíamente es el primero en desaparecer (Jackson, 1884; Rovee-Collier & Cuevas, 2009).

A partir de los datos obtenidos en pacientes amnésicos, así como de sujetos adultos normales de los cuales se podía discriminar los tipos de memoria, los autores sugirieron que *“las manifestaciones de memoria en el infante, como en el amnésico, pueden ser atribuibles solo a una de estas formas de memoria”* (Schacter & Moscovitch, 1984, p. 174). Progresivamente se fue construyendo una noción de maduración ligada a un concepto de evolución como progreso. Se sostiene que el sistema de memoria que se conserva en pacientes amnésicos es un sistema primitivo, funcional desde las tempranas épocas del desarrollo ontogenético, mientras que el sistema que se asume se altera en estos pacientes es de mayor nivel y se vuelve funcional tardíamente en el desarrollo (ver discusión en Rovee-Collier, 1997). Es a partir de este supuesto que Schacter and Moscovitch (1984) analizan los trabajos de memoria en la infancia. Para dar cuenta de los dos tipos de sistemas de memoria los autores postulan una clasificación que sugiere la aparición secuencial de los mismos. El *sistema temprano* que corresponde a la memoria procedimental o inconsciente que se encuentra conservada entre los pacientes amnésicos, y el *sistema tardío* que da cuenta de la memoria episódica o consiente que es la que se ve afectada en los casos de amnesia (Schacter &

Moscovitch, 1984). Para los autores, los infantes son capaces de resolver diferentes tareas empleando el sistema temprano de memoria, sin embargo el sistema tardío se vuelve funcional recién hacia el final del primer año de vida del infante humano.

La práctica de inferir la capacidad de aprendizaje y memoria de los infantes a partir del comportamiento de pacientes adultos amnésicos se desarrolló ampliamente sin ser cuestionada (Rovee-Collier & Cuevas, 2009).

“La realidad psicológica y neurobiológica de los múltiples sistemas de memoria es sugerida a partir de la evidencia de una variedad de fuentes: experimentos psicológicos que demuestran la disociación funcional entre tareas que emplean diferentes tipos de memoria, estudios neuropsicológicos que proveen evidencia de efectos diferenciales de lesiones experimentales o daños cerebrales en diferentes clases de tareas de memoria y, quizás, estudios de desarrollo que encuentran evidencia de retención en una clase de tareas antes de que haya evidencia de retención en una clase diferente de tareas” (Schacter & Moscovitch, 1984, p. 174).

Por ejemplo, en su capítulo, Schacter and Moscovitch (1984) analizan un tipo de prueba frecuentemente empleado para estudiar los procesos de aprendizaje y memoria en infantes humanos. Se trata de las pruebas de habituación y preferencia por la novedad (también conocidas como comparación visual apareada o VPC por sus siglas en inglés -Visual Paired Comparison-). Éstas se basan en el hecho de que los infantes prefieren mirar y manipular patrones y objetos nuevos. Esta característica puede usarse para medir el grado en que la información sobre un estímulo particular ha sido codificada y almacenada en la memoria. De este modo, cuando la atención hacia algún objeto se reduce conforme pasan los ensayos, pero se recupera con la presentación de un objeto nuevo, ese patrón de habituación y recuperación se toma como evidencia de memoria del objeto original (memoria explícita). Sin embargo, los autores proponen que estos resultados pueden interpretarse en términos de una facilitación de procesamiento de estímulos familiares, una consecuencia de la modificación de un procesamiento cognitivo-perceptual, en lugar de suponer que se accede a un tipo de memoria episódica en la cual se comparan ambos eventos, el familiar y el nuevo.

El tipo de interpretación brindada por los autores tiene relación con la interpretación de las capacidades de aprendizaje conservadas en pacientes amnésicos. Se ha sugerido que el sistema de memoria temprano subyace a ciertos efectos de “priming” y facilitación de procedimientos, mientras que el sistema de memoria tardío subyace a la habilidad para recordar y reconocer eventos específicos del pasado. Un correcto desempeño en las tareas de habituación y preferencia por la novedad no requiere un conocimiento explícito de que un evento ocurrió en el contexto de experimental. Los sujetos pueden responder correctamente sin ninguna referencia al contexto. Por lo tanto, la similitud entre el desempeño que presentan pacientes amnésicos y los infantes en estas tareas conduce a los autores a suponer que la memoria de reconocimiento en estos últimos esta mediada por un sistema de memoria temprano.

Asimismo, el tiempo de retención de una memoria ha sido tomado como criterio de distinción entre los dos sistemas. En estudios con sujetos adultos se ha observado que el desempeño en tareas vinculadas al sistema tardío (memoria explícita) declina a medida que incrementa el tiempo entre el estudio y la prueba. Sin embargo, este decaimiento en la memoria no se observa en las tareas que se asumen son soportadas por el sistema temprano (memoria implícita) (Rovee-Collier, 1997; Schacter & Moscovitch, 1984).

En el caso de los infantes, se ha observado que los efectos de la prueba de habituación/preferencia son inmunes al incremento del intervalo temporal entre el entrenamiento y la prueba. A su vez, (Schacter & Moscovitch, 1984) señalan que la habituación a largo plazo (en términos de semanas o meses) se ha observado en una variedad de organismos “*inferiores*”, y citan los trabajos en *Aplysia* (Castellucci & Kandel, 1976), lombrices (Gardner, 1968), y ratas (Leaton, 1974). Asimismo, afirman:

“La retención a largo plazo de la habituación por organismos inferiores fortalece la mirada de que la persistencia de la habituación y los efectos de preferencia a la novedad observados en infantes podrían estar mediados por un sistema de memoria temprano, algo primitivo, basado en procedimientos” (Schacter & Moscovitch, 1984, p. 188).

Por otro lado, los autores proponen comprender el rol de los sistemas de memoria temprano y tardío en el condicionamiento a través de la revisión de estudios en especies no humanas. Y aclaran:

“Para hacer esto, debemos partir de nuestra confianza en las disociaciones puramente funcionales entre los sistemas de memoria y considerar brevemente los sustratos neurológicos que pueden subyacer a estos” (Schacter & Moscovitch, 1984, p. 192).

Los autores señalan que la amnesia en humanos adultos surge del daño de varias estructuras nerviosas, principalmente los lóbulos temporales anterior-medial y el hipocampo, así como las estructuras diencefálicas, como los cuerpos mamilares y el núcleo dorsomedial del tálamo, que están estrechamente relacionados anatómicamente con el hipocampo. Sin embargo, dado que la amnesia debida al daño bilateral del hipocampo es tan profunda, muchos investigadores en búsqueda de un modelo animal de la amnesia humana se han concentrado principalmente en el hipocampo.

“Por lo tanto, nosotros asumiremos en la siguiente discusión que las funciones del sistema de memoria tardío en los mamíferos depende de la integridad del hipocampo y estructuras relacionadas y que el condicionamiento en animales con un hipocampo dañado o no desarrollado esta por necesidad mediado por un sistema de memoria temprano” (Schacter & Moscovitch, 1984, p. 192).

También señalan los autores que:

“Si existe una continuidad filogenética en las funciones del hipocampo nosotros esperamos que el condicionamiento en infantes humanos sin un sistema de memoria tardío completamente desarrollado se parecerá al de los otros mamíferos con el hipocampo dañado o no desarrollado” (Schacter & Moscovitch, 1984, p. 192).

Por último, los autores postulan que en tareas que se han vinculado con el sistema de memoria tardío, como la igualación a la muestra demorada, en la cual es

necesaria la referencia a un episodio particular para que la tarea pueda realizarse exitosamente, los infantes menores a un año realizan la prueba pobremente, como lo hacen los amnésicos y los monos y ratas con lesiones del hipocampo.

A partir de estos primeros trabajos, la hipótesis de que dos sistemas de memoria separables maduran a un ritmo diferente durante el primer año de vida en infantes humanos (Rovee-Collier, 1997; Schacter & Moscovitch, 1984) se fue aceptando como un hecho. Actualmente se reconoce que este sistema de memoria dicotómico emerge jerárquicamente durante la infancia y alcanza una capacidad madura de nivel adulto para el aprendizaje y la memoria (Bauer, 2008; Rovee-Collier & Cuevas, 2009). Esta capacidad de memoria explícita de nivel adulta depende de la maduración del hipocampo, lo cual ocurre alrededor de los 8-12 meses de edad en infantes humanos (Bauer, 2008; Richmond & Nelson, 2007).

2. PERSPECTIVA ACTUAL SOBRE LOS PROCESOS DE MEMORIA EXPLÍCITA DURANTE LA INFANCIA

A. PERSPECTIVA NEUROMADURATIVA DE LA MEMORIA

La perspectiva neuromaduracional o del neurodesarrollo (Bauer, 2006, 2008; Rovee-Collier & Giles, 2010), que se desprende de la propuesta aportada por Schacter and Moscovitch (1984), es la aproximación teórica dominante desde la cual se abordan los fenómenos de aprendizaje y memoria durante el desarrollo ontogenético (Mullally & Maguire, 2014). Esta perspectiva, que como se señaló nace del estudio de pacientes amnésicos, se fue construyendo sobre la idea de maduración jerárquica de las funciones y asume un fuerte correlato entre el aspecto nervioso y las funciones mnésicas. Sin embargo, aún enfrenta desafíos:

“El estudio de las bases biológicas de la memoria tiene una larga historia. Basada en la investigación en pacientes con lesiones y enfermedades específicas, modelos animales y estudios de neuroimagen, el substrato neural que soporta la memoria declarativa en adultos ha sido relativamente bien articulado. Por el contrario, los estudios sobre las bases neurales de la memoria durante el desarrollo está en su infancia” (Bauer, 2008, p. 10).

A pesar de la “inmadurez” teórica en esta área, actualmente se reconoce que los tipos de memoria dependen de diferentes substratos neurales que se desarrollan a un ritmo distinto. Las estructuras vinculadas a la memoria implícita (no declarativa/temprana) son funcionales tempranamente en el desarrollo, mientras que aquellas que soportan el sistema explícito (declarativo/tardío), es decir las conexiones cortico-temporales, se desarrollan más lentamente, y esto repercute en el comportamiento, dando lugar cambios relacionados con la edad en la memoria declarativa (Nelson, 1997, 2000). Por ejemplo, Bauer (2008) señala que hacia el final del primer año de vida, coincidiendo con el incremento de la sinaptogénesis en la corteza prefrontal y en el giro dentado del hipocampo, los infantes muestran una capacidad de retención prolongada en pruebas de imitación elicitada, una prueba que permite evaluar de manera no verbal la memoria explícita (declarativa). Por ejemplo, infantes de 9 meses de edad pueden recordar una secuencia de varios pasos durante un mes, pero no durante 3 meses. Sin embargo, a los 10 meses de edad la capacidad de retención se extiende hasta 3 meses (Carver & Bauer, 2001).

Para Bauer la explicación del comportamiento puede realizarse a partir de los correlatos biológicos. Incluso aunque los mismos no hayan sido directamente evaluados, dada la certeza de la relación entre sustrato-función, resulta lógico y válido explicar el comportamiento a partir de dichos supuestos:

“La consideración de la biología de la memoria es importante para una descripción precisa de los cambios en el comportamiento mnésico. También es importante la explicación del cambio relacionado con la edad. Un beneficio es que nos permite relacionar el fenómeno a través de niveles de análisis. Por ejemplo, podemos explicar los cambios en el período de tiempo en que los niños de distintas edades recuerdan los eventos apelando a los cambios en el sustrato neural que respaldan la memoria a largo plazo. En el caso del desarrollo temprano de la memoria, dicho análisis conduce a la identificación de estructuras temporales mediales en general y el giro dentado del hipocampo en particular como una variable limitante de la proporción en la memoria a largo plazo. A medida que estas estructuras se desarrollan,

esperamos (y de hecho, parece ser así) ver cambios en el comportamiento mnésico. Críticamente, las conexiones entre los niveles de análisis hacen más que impulsar los fenómenos psicológicos y conductuales dentro de la biología. También conducen a nuevas hipótesis con respecto a las fuentes de los cambios relacionados con la edad” (Bauer, 2008, p. 9).

Esta autora retoma los resultados de condicionamiento operante basado en el reforzamiento conjugado empleado por Rovee-Collier y su equipo (Rovee-Collier, 1997, 1999; Rovee-Collier & Barr, 2010). Este tipo de condicionamiento, el cual utilizan para evaluar infantes a partir de los 3 meses de edad, consiste en el uso de un móvil de cuna el cual se mueve cuando el infante da patadas debido a que sus pies se encuentran conectados al móvil por medio de una cinta (ver Figura 2). El reforzamiento en este tipo de paradigma es inmediato, continuo y varía en fuerza con las patadas que dan los infantes. El condicionamiento, que es evaluado por el incremento en la tasa de patadas con respecto a la línea de base, es rápido y puede mantenerse por días. Para Bauer (2008) este tipo de aprendizaje depende del desarrollo temprano del cerebelo y ciertos núcleos del tallo cerebral. Sin embargo, Rovee-Collier and Cuevas (2009) llaman la atención sobre el hecho de que los correlatos neurobiológicos de la prueba con el móvil nunca fueron examinados directamente y que las áreas cerebrales que han sido señaladas por Bauer como soporte de este aprendizaje surgen a partir de una analogía con la respuesta de flexión condicionada de la pata estudiada en gatos adultos. Asimismo, las autoras también aclaran que a diferencia de un aprendizaje ligado al tipo de memoria implícita, el cual se caracteriza por ser gradual, en la prueba con el móvil el aprendizaje es rápido (no gradual o incremental).

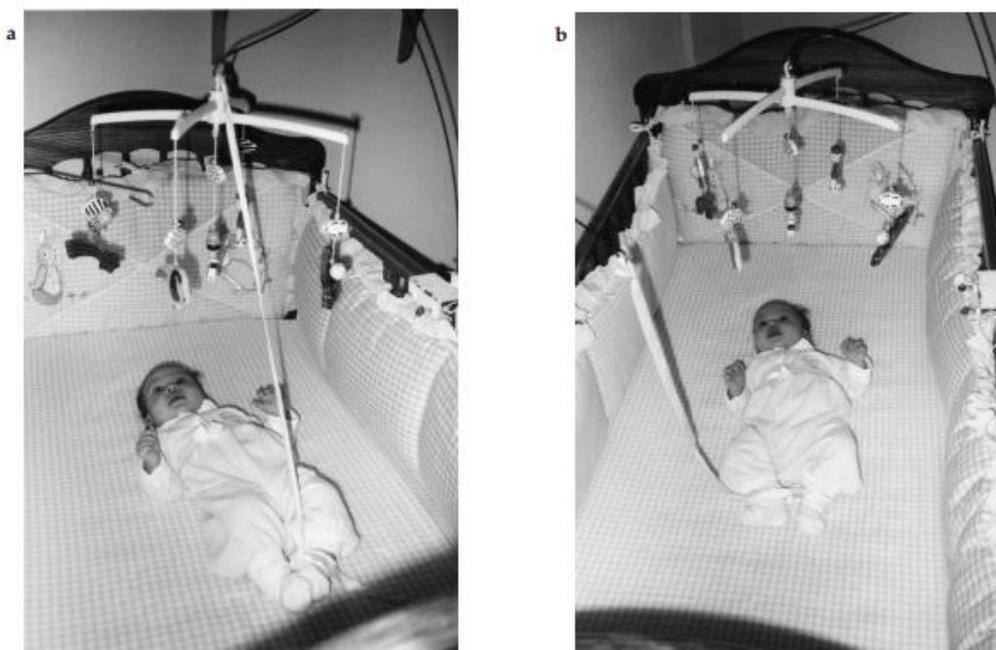


Figura 2: Infante de 3 meses de edad durante el entrenamiento y prueba de retención en la tarea de reforzamiento conjugado con un móvil. Durante el entrenamiento (a) las patadas del infante mueven el móvil por medio de una cinta atada al tobillo que se conecta al móvil. Durante la línea de base y las pruebas de retención (b), la cinta se conecta en otro gancho por lo que las patadas no pueden mover el móvil (extraído de Rovee-Collier, 1999).

B. CRÍTICAS A LA PERSPECTIVA NEUROMADURATIVA

A pesar de la extensión como programa de investigación, el supuesto neuromadurativo empleado para explicar el desempeño diferencial en tareas de memoria durante el desarrollo no es aceptado por todos los investigadores. Algunos manifiestan objeciones relacionadas a cómo se evalúan los diferentes sistemas de memoria y respecto a cómo se interpretan los resultados de esas evaluaciones. Por ejemplo, existe controversia en relación a cómo se clasifican las pruebas frecuentemente empleadas en infantes, es decir, qué tipo de memoria mide cada una de estas pruebas: comparación visual apareada (VPC), condicionamiento operante (paradigma de refuerzo conjugado del móvil y el paradigma empleando un tren de juguete), y los protocolos de imitación (se le muestra una acción o una secuencia de acciones al infante y este debe reproducirla inmediatamente- imitación elicitada- o luego de un tiempo -imitación diferida) (Mullally & Maguire, 2014).

En el caso de los sujetos adultos, para distinguir cuál es el sistema de memoria que participa en la resolución de una determinada prueba se han empleado dos tipos de criterios (Hayne, 2004). El primer criterio, que puede denominarse *criterio de amnesia*, se basa en la comparación respecto al desempeño en las pruebas entre pacientes amnésicos y sujetos sanos. Si una prueba puede ser resuelta por ambos grupos de sujetos esta se clasifica como destinada a la medición del tipo de memoria implícita o no declarativa, mientras que si la prueba sólo puede ser resuelta por los sujetos sanos se asume que esta prueba evalúa el tipo de memoria explícita o declarativa (Hayne, 2004). La otra estrategia para determinar el tipo de memoria que está siendo evaluado con cada prueba es analizar las variables independientes que influyen en el desempeño de una prueba particular. De acuerdo con el *criterio de parámetro* la retención en tareas que se cree que emplean la memoria declarativa o explícita están influenciadas por variables independientes que no influyen en el rendimiento en tareas que se cree que utilizan memoria no declarativa o implícita.

Siguiendo el criterio de amnesia, Hayne (2004) reporta que los infantes son capaces de realizar de forma exitosa pruebas como el procedimiento de reconocimiento visual (VRM por sus siglas en inglés), las pruebas de imitación, los potenciales relacionados con evento (ERPs por sus siglas en inglés), y el condicionamiento clásico de parpadeo empleando un esquema de huella, pruebas que pacientes amnésicos adultos no pueden resolver, mientras que sujetos adultos normales logran superarlas. Al superar el criterio de amnesia es esperable suponer que los infantes poseen un sistema de memoria explícita funcional.

Sin embargo, algunos autores insisten en remarcar que un organismo en desarrollo no puede compararse con un sujeto que padece una lesión (Rovee-Collier, 1997); el desarrollo no implica daño, por lo que desde la perspectiva del desarrollo el criterio de amnesia no es válido. De este modo Rovee-Collier (1997) opta por realizar su análisis a partir del criterio de parámetros, es decir, evaluando si la participación de ciertas variables independientes, ligadas a la modificación de desempeño en tareas de memoria explícita o declarativa, también afectan el desempeño en las pruebas con infantes. Para hacerlo presenta diferentes

resultados obtenidos empleando dos tipos de pruebas, la *prueba de reconocimiento retrasado*, la cual se vincula con las pruebas de reconocimiento empleadas en adultos y que se asume evalúan memoria explícita, y la *prueba de reactivación*, ligada a las tareas de “priming” y que se supone evalúan memoria implícita. Rovee-Collier (1997) demuestra que el desempeño en la prueba de reconocimiento retrasado se ve afectado en infantes de entre 3 y 6 meses por variables que se han observado afectan a las pruebas de memoria explícita en adultos, mientras que estas mismas variables no producen alteración en el comportamiento cuando se emplea la prueba de reactivación, al igual que ocurre con pruebas vinculadas a la memoria implícita en sujetos adultos (ver Tabla 1, extraída de Rovee-Collier, 1997).

Tabla 1.
Variables independientes y sus efectos en pruebas de memoria implícita y explícita

Variable Independiente	Efecto sobre tareas implícitas	Efecto sobre tareas explícitas
Edad	Ninguno	Amplio
Intervalo de retención	Ninguno	Amplio
Vulnerabilidad (interferencia)	Limitado	Grande
Número de ensayos del estudio	Pequeño	Amplio
Tiempo del estudio (exposición)	Ninguno	Amplio
Número de ítems estudiados	Ninguno	Amplio
Nivel de procesamiento	Ninguno	Amplio
Efectos de espaciamiento	Ninguno	Amplio
Afecto	Importante	Menos importante
Posición serial	Transitorio o ninguno	Efecto de primacía persistente
Tamaño estudiado	Ninguno	Amplio
Capacidad de memoria (caga)	Ninguno	Amplio
Dependencia contextual	Menos pronunciado	Más pronunciado

Resumen de variables independientes y sus efectos en el desempeño adulto en pruebas de memoria implícita y explícita (extraído de Rovee-Collier, 1997).

En función de estos resultados Rovee-Collier señalará que si existen dos sistemas de memoria estos emergen tempranamente en la ontogenia y se desarrollan en paralelo durante la infancia, y que en esta etapa los infantes exhiben

capacidades de memoria de alto orden que son descriptas como memoria explícita o declarativa (Hayne, 2004; Rovee-Collier, 1997).

Por otro lado, empleando los modelos de condicionamiento operante descriptos también se ha observado que infantes de 3 meses de edad son capaces de exhibir un fenómeno comportamental que se conoce como *efecto de renovación*, que demuestra la dependencia contextual de la extinción ya que refleja que una respuesta extinguida puede ser recuperada cuando se evalúa en un contexto diferente al de la extinción (Cuevas, Learmonth, & Rovee-Collier, 2016). Este efecto requiere de un hipocampo intacto y funcional (Ji & Maren, 2007).

En resumen, la propuesta de los múltiples sistemas de memoria surge a partir de los estudios de pacientes adultos con lesiones o de modelos animales no humanos. Posteriormente esta propuesta es empleada para interpretar los fenómenos mnésicos durante el desarrollo amparados en una larga tradición de psicología comparativa que sugiere que *“las ‘lecciones’ aprendidas de una población pueden aplicarse, con un cuidado apropiado, a otros”* (Bauer, 2008, p. 5). Sin embargo, los infantes humanos no pertenecen a ninguna de estos grupos y por lo tanto no es correcto identificar los procesos que subyacen a la memoria en estos grupos como si fueran idénticos (Rovee-Collier, 1997).

Rovee-Collier y su equipo han criticado duramente la propuesta de un sistema de memoria dicotómico que se desarrolla de manera jerárquica. Señalan que esta visión es *“conceptual y empíricamente imperfecta”* (Rovee-Collier & Cuevas, 2009, p. 2) en diferentes puntos: a) ambigüedad conceptual en la clasificación de memoria explícita e implícita, donde muchas veces se mezclan las características neuroanatómicas con las características cognitivas; b) el criterio de conciencia no es una base conceptual apropiada para que la memoria de infantes pre-verbales (y agregaría de animales no humanos) sea clasificada como implícita o explícita, dado que estos sujetos no están en condiciones de reportar si son conscientes de haber experimentado un evento particular previamente; c) no se puede identificar una prueba particular con un proceso subyacente; d) la clasificación implícito/explicito es meramente descriptiva y no aborda el mecanismo mnésico; e) la maduración cerebral de los infantes no es una limitación

para formar, mantener y recuperar memorias a largo plazo; f) los sistemas de memorias dicotómicos no pueden explicar una gran cantidad de datos de aprendizaje y memoria en infantes humanos y no humanos (Rovee-Collier, 1997; Rovee-Collier & Cuevas, 2009).

3. EL APRENDIZAJE CONTEXTUAL COMO FORMA DE MEMORIA EXPLÍCITA

Como se ha desarrollado a lo largo de los apartados anteriores, el tipo de memoria explícita es un tipo de memoria que se asume es dependiente del funcionamiento de las estructuras del lóbulo temporal medial, particularmente del hipocampo. Estas estructuras se desarrollan tardíamente en la ontogenia temprana (hacia finales del primer año en infantes humanos, y posterior al destete -DP21- en ratas). De acuerdo con la perspectiva neuromadurativa (o del neurodesarrollo) es posible predecir que aquellos comportamientos o funciones cognitivas dependientes de hipocampo no podrán expresarse antes de que éste complete su maduración.

Un aprendizaje que se identifica como parte de la memoria explícita y por ende dependiente de hipocampo, es el aprendizaje de contexto (Fanselow, 2000). El contexto cumple un papel fundamental en el recuerdo de episodios de la vida, a tal punto que parte de lo que se necesita para recuperar un evento pasado es la activación de una representación coherente del contexto donde se experimentó dicho episodio (Rudy, 2009). Asimismo, es importante recalcar que desde la perspectiva neuromadurativa, el estudio del aprendizaje contextual durante la ontogenia ha sido usado como un marcador que permite inferir el desarrollo del sistema de memoria explícita y la maduración de las estructuras cerebrales respectivas (Revilla, Cotella, Paglini, & Arias, 2015).

Son varios los trabajos en los que se asume que la madurez del sistema hipocampal determina el aprendizaje contextual (Poulos et al., 2014; Rudy & Morledge, 1994) y los fenómenos de interferencia dependientes de contexto, como el caso de la extinción (Kim & Richardson, 2007a, 2007b, 2010).

A. DEFINICIÓN DE CONTEXTO

El contexto puede ser definido a partir de las siguientes características: 1) es estable, de larga duración, estático y constante. Puede describirse como el fondo, en oposición a las claves discretas que pueden presentarse en él y son de corta duración; 2) debe soportar la variación de alguno de los componentes. La modificación de alguno de los componentes del contexto no altera la representación del contexto como un todo (Revilla et al., 2015; Rudy, 2009).

El contexto puede clasificarse en dos tipos, a saber, *contexto externo*, que hace referencia a los componentes físicos de un ambiente particular que pueden incluir aspectos como la iluminación, el sonido, olores, texturas, tamaños y formas, etc., y *contexto interno* que incluye los estados del organismo, tales como aquellos inducidos por cambios hormonales o neuroquímicos debidos a la administración de drogas o a la exposición de circunstancias particulares como la privación de alimento o líquido (Revilla et al., 2015). Incluso los eventos temporales han sido considerados parte del contexto (Bouton, 1993).

Pero además del aspecto *estructural* que se ha enfatizado previamente, el contexto puede definirse también en términos *funcionales*. En ese sentido, el contexto puede actuar como un estímulo que predice la llegada de un evento relevante (Rescorla & Wagner, 1972). También puede facilitar la recuperación de una memoria, en tanto que el contexto de prueba sea similar al del entrenamiento, mientras que si estas dos instancias difieren es posible observar una reducción en la recuperación de la memoria, lo que se conoce como *efecto de cambio de contexto* (Bouton & Todd, 2014; Bouton, Todd, Vurbic, & Winterbauer, 2011; Riccio & Joynes, 2007; Todd, Winterbauer, & Bouton, 2012b). Por último, el contexto puede servir para desambiguar una situación conflictiva, como puede ocurrir en el caso de la extinción. Ésta se reconoce como un nuevo aprendizaje que puede efectuarse en un contexto diferente al del entrenamiento. En la instancia de prueba la respuesta estará determinada por el contexto empleado en la misma (Bouton & Bolles, 1979; Bouton & Todd, 2014; Bouton et al., 2011; Todd, Vurbic, & Bouton, 2014; Todd, Winterbauer, & Bouton, 2012a).

B. EL APRENDIZAJE CONTEXTUAL EN RATAS INFANTES

Los supuestos que guían el estudio de los sistemas de memoria y su desarrollo ontogenético empleando modelos animales no difieren de los que han sido descritos previamente para el caso de infantes humanos. La visión dominante en el campo postula que ratas pre-destetadas, menores de 21 días de edad, son incapaces de aprender información relacionada con el sistema de memoria explícita. Como señalamos en apartados anteriores, la representación contextual forma parte de este tipo de información. La perspectiva neuromadurativa, por lo tanto, postula que hasta que las estructuras cerebrales implicadas (particularmente hipocampo) no completan el desarrollo, lo que ocurre alrededor de los DPs 23-24, no es posible observar el aprendizaje contextual (Raineke et al., 2010; Rudy, 1993; Stanton, 2000).

El condicionamiento de miedo contextual es el paradigma que generalmente se ha utilizado para abordar el aprendizaje contextual durante la ontogenia empleando ratas infantes como sujetos experimentales (Revilla et al., 2015). Este se basa en la presentación de estímulos aversivos (generalmente descargas eléctricas) en un contexto nuevo y se interpreta a partir de la respuesta de inmovilización o congelamiento (conocida como respuesta de miedo) que realiza el animal cuando es colocado en el contexto al momento de la evaluación en ausencia de la descarga (Fanselow, 2000). Actualmente se reconoce que el hipocampo es la estructura fundamental que sostiene este tipo de aprendizaje (Fanselow, 2000; Raineke et al., 2010).

El aprendizaje de miedo contextual ha sido ampliamente observado en ratas destetadas (Rudy, 1993; Rudy & Morledge, 1994), adolescentes (Broadwater & Spear, 2013) y adultas (Fanselow, 2000). Sin embargo existe controversia respecto a su detección en animales infantes pre-destetados. Algunos resultados muestran que la respuesta condicionada de miedo a un contexto se presenta en ratas destetadas, de alrededor de 23-24 días postnatales (DP23-24), pero no en ratas pre-destetadas (DP17-18) (Raineke et al., 2010; Rudy, 1993; Rudy & Morledge, 1994; Schiffino, Murawski, Rosen, & Stanton, 2011). Para dar cuenta de esta aparente incapacidad algunos autores ligados a la perspectiva neuromadurativa

han planteado que los infantes pueden mostrar un condicionamiento contextual a corto pero no a largo plazo (Rudy & Morledge, 1994). Por otro lado, al emplear condicionamiento de miedo hacia una clave auditiva, además del condicionamiento de miedo contextual, Rudy and Morledge (1994) excluyeron la posibilidad de que la diferencia en el desempeño durante la prueba entre los animales de las dos etapas ontogénicas se debiera a la sensibilidad a la descarga eléctrica o a la imposibilidad de expresar la respuesta de miedo. De acuerdo con su interpretación de los datos, la ausencia de respuesta al contexto 24 horas después del entrenamiento entre los animales del grupo pre-destetado se debió a una deficiencia en la memoria a largo plazo. Esta imposibilidad de expresar un aprendizaje de contexto fue observada incluso aumentando la intensidad de la descarga eléctrica así como la cantidad de presentaciones (Jablonski, Schiffino, & Stanton, 2012). Asimismo, esta diferenciación en la expresión de la respuesta hacia el contexto y hacia la clave podría interpretarse desde esta perspectiva como una disociación en la capacidad de aprendizaje y memoria, tratándose en el último caso de un aprendizaje independiente de hipocampo.

Por otro lado, también se ha postulado que los infantes son incapaces de formar una representación unitaria del contexto, la cual es dependiente de hipocampo (Jablonski et al., 2012; Rudy, 1994; Schiffino et al., 2011). Esta interpretación se desprende de los resultados obtenidos en una prueba destinada específicamente a evaluar el efecto de facilitación por pre-exposición al contexto (CPFE por sus siglas en inglés), el cual puede expresarse si previamente se construye una representación jerárquica y en conjunto del contexto que no requiere del aprendizaje de características aisladas del mismo (Rudy, 2009; Schiffino et al., 2011). En esta tarea, los sujetos son expuestos a una descarga eléctrica inmediatamente después de que son colocados en la caja de condicionamiento y son retirados poco tiempo después de recibirla. Sin embargo, la mitad de los animales son colocados en el contexto 24 horas antes de sufrir la descarga. En adultos se observa que esta exposición previa favorece el aprendizaje de miedo contextual, que de otro modo no puede formarse (Rudy, 2009; Schiffino et al., 2011). Los investigadores han postulado que la pre-exposición al contexto permite la formación de una representación unitaria del mismo que produce el

aprendizaje contextual de miedo al relacionarse con una descarga eléctrica. Debido a que este aprendizaje no se ha observado en ratas infantiles, algunos autores concluyen que los infantiles no pueden formar una representación unitaria del contexto (Schiffino et al., 2011).

Sin embargo, como lo advierte Reville et al. (2015), es posible detectar que ciertos aspectos procedimentales podrían estar perjudicando la expresión del aprendizaje contextual en ratas infantiles. Por ejemplo, en los trabajos citados se emplean contextos que se caracterizan por estar constituidos a partir de claves visuales poco perceptibles para animales de esta edad, como cajas con paredes transparentes. A su vez, también se observa que se realizan comparaciones de puntajes brutos de la respuesta de congelamiento entre animales pre-destedados y ratas destetadas (Burman, Erickson, Deal, & Jacobson, 2014; Rudy, 1993; Rudy & Morledge, 1994).

Se ha observado que cuando el contexto es resaltado con un estímulo olfatorio es posible observar la expresión de la memoria contextual en infantiles. En estos casos los sujetos parecen mostrar una efectividad similar, o incluso mayor, a los adultos en lo que respecta a condicionamiento de miedo contextual (Brasser & Spear, 1998, 2004; Carew & Rudy, 1991). Por ejemplo, Esmoris-Arranz, Mendez, and Spear (2008) observaron que cuando un estímulo condicionado auditivo discreto (EC) fue emparejado con una descarga eléctrica (EI) dentro de un contexto olfativo (olor a limón), ratas infantiles DP17-18 expresaron la respuesta condicionada al contexto, que consistió en la supresión de la actividad general (congelamiento). Esta respuesta se redujo cuando el contexto fue extinguido. Sin embargo, cuando luego se presentó el EC la respuesta condicionada volvió a expresarse. Incluso, tal como lo muestran Pisano, Ferreras, Krapacher, Paglini, and Arias (2012), cuando se contemplan otras variables dependientes tales como el número de bolos fecales, o bien se realiza un análisis más amplio del repertorio comportamental del animal (exploración vertical, exploración horizontal y acicalamiento), y se agregan los controles pertinentes (grupo sin descarga eléctrica), el uso del protocolo experimental de facilitación por pre-exposición

(CPFE) arroja resultados que pueden ser tomados como evidencia clara de condicionamiento de miedo contextual en ratas pre-destetadas.

C. EFECTO DE CAMBIO DE CONTEXTO

Por otro lado, como señalamos anteriormente, en el caso de organismos adultos se reconoce que el contexto puede actuar como una poderosa fuente de recuperación o de olvido y esto depende de si el contexto está presente o no al momento de la prueba. El grado de similitud entre los contextos de entrenamiento y de prueba favorece la recuperación del aprendizaje. Se conoce como *efecto de cambio de contexto* a la reducción o el olvido de la respuesta aprendida debido a la evaluación del aprendizaje en un contexto diferente (Bouton & Todd, 2014; Bouton et al., 2011; Todd et al., 2012b). Richardson, Riccio y colaboradores han observado que cuando el contexto empleado durante la prueba es el mismo utilizado durante el entrenamiento el olvido se reduce y el aprendizaje original se recupera (Richardson, Riccio, & Axiotis, 1986; Richardson, Riccio, & Jonke, 1983; Richardson, Riccio, & McKenney, 1988). La detección de este efecto durante la infancia implica que los infantes codifiquen la información del contexto junto con los otros estímulos presentes en la situación de condicionamiento (estímulos condicionados y estímulos incondicionados), y por lo tanto los resultados de estos trabajos son tomados como evidencia a favor del aprendizaje contextual en estas edades.

D. PARADIGMAS DE INTERFERENCIA DEPENDIENTES DE CONTEXTO: EL CASO DE LA EXTINCIÓN

El debate respecto a si ratas infantiles pre-destetadas son capaces de retener información contextual también abarca la ontogenia de otros fenómenos de aprendizaje, como los paradigmas de interferencia (Bouton, 1993), donde el contexto juega un papel fundamental. El fenómeno de *extinción* ilustra esta diferencia ontogenética (Kim & Richardson, 2007a, 2007b, 2010). Por extinción hacemos referencia a un procedimiento en el cual la respuesta aprendida disminuye cuando la presentación del EC o de la respuesta operante no es seguida del reforzador (Bouton, 2002; Bouton & Todd, 2014). Las primeras explicaciones

provenientes de la teoría de aprendizaje asociativo sugirieron que la extinción se debía a un "desaprendizaje" o "borrado" del aprendizaje original (ej. Rescorla & Wagner, 1972). Sin embargo, la recuperación de la respuesta aprendida después de la extinción reveló que el aprendizaje original no había sido borrado, y que la extinción era el resultado de un nuevo aprendizaje altamente dependiente del contexto (Bouton, 2002, 2004).

Existen diferentes procedimientos que posibilitan la recuperación del aprendizaje original extinguido. Por ejemplo, se reconoce ampliamente que una respuesta condicionada extinguida en animales adultos puede ser parcialmente recuperada cuando se la evalúa en un contexto diferente del utilizado durante la extinción, un fenómeno que se conoce como *efecto de renovación* (Bouton, 1993, 2002, 2004; Bouton, Todd, Vurbic, & Winterbauer, 2011). Otro fenómeno de recuperación de la respuesta extinguida es el *efecto de restablecimiento*, en el que la respuesta retorna cuando el sujeto es expuesto nuevamente al reforzador (recordatorio) antes de la prueba (Bouton & Bolles, 1979). Como ha sido observado con otros procedimientos, este efecto es dependiente del contexto, por lo que la recuperación de la respuesta se observa sólo en el contexto donde el recordatorio ha sido presentado (Baker, Steinwald, & Bouton, 1991; Bouton, 1984; Bouton & Bolles, 1979; Bouton & King, 1983).

Siguiendo la lógica de inmadurez biológica e incapacidad de aprendizaje contextual en infantes, algunos trabajos revelaron que el efecto de renovación se expresa entre ratas destetadas, pero no pudieron observarlo en ratas infantes predestetadas (Kim & Richardson, 2007b; Yap & Richardson, 2007). Asimismo, estos autores tampoco detectaron el restablecimiento de la respuesta extinguida (Kim & Richardson, 2007a). Estos resultados negativos condujeron a los autores a sugerir que la extinción en la infancia implicaba el borrado del aprendizaje original, en lugar de un nuevo aprendizaje, como ocurre en la etapa adulta (Kim & Richardson, 2010).

Sin embargo, es importante señalar nuevamente que los contextos empleados en estos estudios estuvieron basados únicamente en aspectos visuales, sin un componente sobresaliente, acorde a las capacidades sensoriales de los

sujetos en evaluación. Al considerar la inclusión de olores explícitos como parte del contexto, tal como se realizó en otros experimentos destinados a evaluar el aprendizaje de contexto, se pudo observar el efecto de renovación y restablecimiento en ratas pre-destetadas, así como otros efectos de recuperación de la respuesta extinguida (Revilla, Castello, Paglini, & Arias, 2014; Revilla, Molina, Paglini, & Arias, 2013; Revilla et al., 2016). Estos datos sugieren que cuando los procedimientos experimentales se adaptan a las capacidades sensoriales y motoras de los organismos, estos efectos comúnmente observados en sujetos adultos, también se hacen evidentes durante la temprana ontogenia.

4. UNA PERSPECTIVA ECOLÓGICA PARA PENSAR EL DESARROLLO ONTOGENÉTICO Y LA MEMORIA

Un elemento que parece relevante en los trabajos con ratas infantiles en los cuales se expresa el aprendizaje de contexto es el uso de claves olfativas como parte del mismo. Frente a la discrepancia en los resultados arrojados por los diferentes estudios reportados es necesario indicar que el abordaje de las capacidades de aprendizaje y memoria entre organismos infantiles y adultos debería realizarse de modo que cada grupo etario fuera evaluado en circunstancias comparables. Resulta fundamental considerar las particularidades sensoriales y motoras de los organismos en el proceso de aprendizaje.

Respecto al aspecto sensorial es fundamental reconocer que el contexto depende en última instancia de las capacidades perceptuales del organismo (Revilla, et al., 2015), por lo que el estudio del aprendizaje contextual debe contemplar y adaptar las pruebas a las capacidades perceptuales de los sujetos evaluados. En el caso de los roedores, sus ojos y oídos se abren hacia el final de la segunda semana de vida post natal, mientras que la función olfativa ya es funcional incluso durante el período gestacional (Alberts, 1984; Sullivan, 2005). Así pues, cuando el contexto de condicionamiento se encuentra discriminado por una clave olfativa, la respuesta condicionada evaluada bajo estas condiciones se expresa (Brasser & Spear, 1998, 2004; Carew & Rudy, 1991; Esmoris-Arranz et al., 2008; Lariviere, Chen, & Spear, 1990; McKinzie & Spear, 1995; Revilla, Castello, Paglini, &

Arias, 2014; Reville, Molina, Paglini, & Arias, 2013; Reville, Paglini, & Arias, 2014; Reville, Trebucq, Paglini, & Arias, 2016).

En el año 1984, paralelamente al clásico capítulo de Schacter and Moscovitch (1984), en el cual se asume una visión de infancia ligada a la noción de inmadurez, también se publica un capítulo destinado a pensar los procesos de memoria y aprendizaje en organismos infantes, pero desde una concepción diferente (Spear, 1984). Esta propuesta alternativa, que puede denominarse *perspectiva ecológica*, afirma que los infantes no son meros adultos incompletos que van mejorando con la edad, sino que son organismos perfectamente adaptados a su ambiente, con capacidades de memoria similares a las observadas durante la etapa adulta, las cuales les permiten aprender rápidamente las características de su nicho, lo que les brinda capacidad de supervivencia y reproducción (Rovee-Collier, 1996).

Es interesante remarcar que esta propuesta teórica, a diferencia de la perspectiva neuromadurativa que nace a partir de casos de adultos enfermos, surge del estudio con ratas infantes que se realiza desde el campo de la psicobiología del desarrollo:

“La explicación ecológica del desarrollo de la memoria en infantes no intenta forzar los datos en infantes para que encaje con el modelo de memoria desarrollado para acomodar los datos obtenidos de adultos normales y enfermos” (Rovee-Collier & Cuevas, 2009, p. 11).

Es fundamental reconocer que a medida que los infantes crecen y cambian también cambia su nicho, así como los desafíos que este les presenta. En esta relación activa y dinámica que se establece entre sujeto-medio, a medida que cambian las demandas también cambian las estrategias para afrontarlas. De acuerdo con esta perspectiva, las capacidades de memoria y aprendizaje durante la infancia son lo mejor que pueden ser para la etapa de desarrollo que atraviesan y para las demandas a las que se enfrentan. El hecho de que en algunos estudios pueda parecer que los infantes carecen de la capacidad para aprender sobre un evento particular puede deberse a que la forma de evaluar dicha capacidad no se

ajusta a las capacidades de los infantes en su etapa del desarrollo. Lo que los infantes y los adultos pueden aprender y recordar de un mismo evento es diferente (Rovee-Collier & Cuevas, 2009). En contraposición a la visión neuromadurativa, la perspectiva ecológica propone que no son los procesos subyacentes los que cambian a lo largo de la ontogenia sino el contenido de lo que es aprendido y recordado.

Siguiendo esta lógica resulta fundamental considerar el nicho en el cual los infantes viven, y las capacidades sensoriales y motoras de estos organismos cuando se diseña un estudio que busca comprender las capacidades en esta etapa del desarrollo, en nuestro caso la capacidad de aprendizaje y memoria respecto a las claves del contexto. Como lo muestran los múltiples trabajos reportados previamente, cuando se emplean claves sensoriales que pueden ser detectadas en esta temprana etapa del desarrollo como lo son las claves olfativas o colores opacos (Brasser & Spear, 2004; Pugh & Rudy, 1996; Revillo, Castello, et al., 2014; Revillo, Gaztanaga, et al., 2014; Revillo, Molina, et al., 2013; Revillo, Paglini, et al., 2014; Revillo et al., 2016), o se evalúan comportamientos propios de la edad (Pisano et al., 2012; Revillo, Paglini, et al., 2014) la memoria de contexto se expresa.

5. CONDICIONAMIENTO OPERANTE EN RATAS INFANTES: EL MODELO DE AUTO-ADMINISTRACIÓN DEL REFORZADOR

Ahora bien, como puede apreciarse, los trabajos reportados previamente han abordado el estudio del aprendizaje contextual en ratas infantes empleando condicionamiento clásico en sus preparaciones experimentales. Sin embargo, Bouton y sus colegas han reportado efectos de contexto, de renovación y restablecimiento en ratas adultas utilizando paradigmas de condicionamiento operante, y mostraron que el contexto puede afectar de manera similar la extinción de una respuesta pavloviana o una respuesta operante (por ejemplo, Baker, Steinwald, & Bouton, 1991; Bouton et al., 2011; Todd et al., 2012a, 2012b). Aunque Rovee-Collier y su equipo han abordado la capacidad de aprendizaje y memoria explícita empleando condicionamiento operante en infantes humanos, ningún estudio ha abordado la capacidad de aprendizaje contextual, ni la posibilidad de

renovación ni restablecimiento de la respuesta extinguida en ratas infantas pre-destetadas empleando un paradigma de condicionamiento operante, a pesar de que existen trabajos que han desarrollado tareas operantes adecuadas a este rango de edad (Arias, Spear, Molina, & Molina, 2007; Chen & Amsel, 1980a, 1980b; Miranda-Morales, Molina, Spear, & Abate, 2010, 2012; Molina, Ponce, Truxell, & Spear, 2006; Ponce, Pautassi, Spear, & Molina, 2008).

Un modelo exitoso para estudiar la capacidad de aprendizaje operante en ratas infantas es el modelo de autoadministración del reforzador, el cual surge con el objetivo de estudiar la autoadministración de etanol en ratas infantas (Pautassi, Miranda-Morales, & Nizhnikov, 2015). Los modelos de autoadministración operante de etanol consisten en que los animales realicen una respuesta arbitraria como presionar una palanca o meter la nariz en un hueco para recibir pequeñas cantidades de etanol (Lopez & Becker, 2014).

En el caso de ratas pre-destetadas, los estudios de consumo de alcohol muchas veces se han valido de la estrategia de administración de la sustancia de interés, en este caso el alcohol, a partir de su infusión mediante una cánula intraoral conectada a otra de mayor calibre que se une a una bomba de infusión (Dominguez, Lopez, & Molina, 1998). Los animales son colocados individualmente en unas cajas donde reciben el alcohol por infusión intraoral. Este modelo permite que el animal tenga cierto control sobre la ingesta del reforzador, ya que al abrir la boca (“gaping”), frotar el hocico en el piso (“chin rubbing”) o dejar escurrir la sustancia (“passive drips”) permite una evitación parcial de la solución. A pesar de que existe cierto grado de control en la ingesta, este modelo no permite el acceso voluntario al reforzador.

Otra técnica interesante que se ha desarrollado para el estudio del consumo voluntario de alcohol a etapas tempranas es la del pezón artificial (Varlinskaya, Petrov, Cheslock, & Spear, 1999). En esta preparación ratas recién nacidas tienen la posibilidad de aferrarse a un pezón artificial y extraer la sustancia de interés (Smotherman, Goffman, Petrov, & Varlinskaya, 1997). Las ratas rápidamente se adhieren al pezón por períodos prolongados e ingieren grandes cantidades de alguna sustancia apetitiva como leche o sacarina, mientras que si la sustancia

disponible es neutral o no se encuentra disponible los infantes consumen pocas cantidades o no se adhieren al mismo (Pautassi et al., 2015).

Por otro lado, Johanson and Hall (1979) mostraron que ratas de apenas un día de edad podían aprender a realizar un comportamiento para tener acceso a pequeñas cantidades de leche. Estos animales, privados durante toda la noche de la lactancia, fueron colocados en un contenedor que presentaba dos paletas. Al presionar una de estas paletas los animales recibían pequeñas cantidades de leche, lo que produjo un incremento en la cantidad de esta respuesta en comparación con los animales del grupo control tipo yoked, es decir, animales que recibían de forma simultánea la misma cantidad del reforzador, independientemente de la respuesta que realizaban. Este tipo de control se asemeja al control no emparejado de los estudios de condicionamiento clásico y presenta las mismas ventajas, como por ejemplo la de reducir la posibilidad de confundir un pseudocondicionamiento con un verdadero condicionamiento (Pautassi et al., 2015). Posteriormente esta prueba fue adaptada para evaluar el efecto reforzante del etanol administrado intraoralmente. Las ratas de tres grupos de edad (3, 9 y 15 días de edad) tuvieron acceso a leche o etanol al 6% v/v mezclado en leche luego de la presión de paleta (Dominguez, Bocco, Chotro, Spear, & Molina, 1993)

Posteriormente, con el objetivo de estudiar los efectos reforzantes de la leche en ratas de 5 días de edad, Arias et al. (2007) desarrollaron un nuevo dispositivo. En esta oportunidad los animales fueron equipados con una cánula en la mejilla y se colocaron en una posición semi-supina (ángulo del 40%) sobre una superficie de algodón y se fijaron a la superficie empleando un chaleco. Este diseño permitía el movimiento de las extremidades anteriores y la cabeza. Se colocó una varilla de metal equipada con un sensor sensible al tacto a 1,0 cm de distancia de la boca de la cría (Figura 3, extraído de Pautassi et al., 2015). En esta técnica se mantiene el control tipo yoked, y ambos animales son evaluados de forma simultánea. Cuando el sujeto emparejado tocaba el sensor provocaba una infusión intraoral de leche (1 μ l) en la cavidad oral de ambos sujetos. Esta preparación utiliza el repertorio motor normal de los animales. Asimismo, las crías necesitan ser separados de su madre entre 3 y 6 horas antes y recibir 4 pulsos gratis del

reforzador al inicio del entrenamiento (DP5 y 6) para motivar la respuesta. El condicionamiento operante se estableció levemente durante la primera sesión, aunque se observaron diferencias sólidas entre los controles y los sujetos emparejados durante la segunda sesión (DP6).

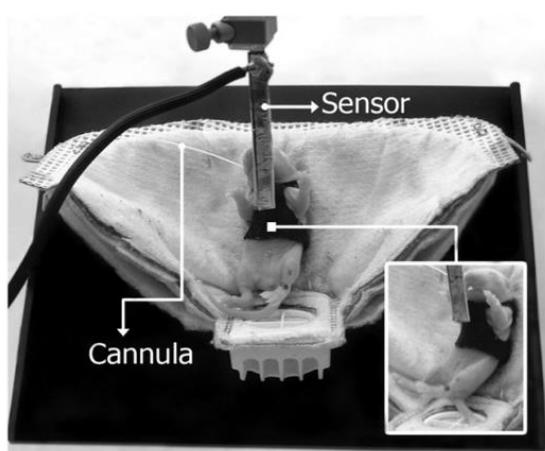


Figura 3. Aparato empleado por Arias et al. (2007) para evaluar el condicionamiento operante en ratas de 5 días de edad. Los animales son colocados en posición semi-supina, fijados a la superficie de algodón empleando un chaleco adaptado para permitir el movimiento de las patas delanteras. Al moverlas tocan un sensor, colocado a 1,0 cm de distancia de la boca. La activación del sensor enciende una bomba de infusión que dispensa leche al interior de la boca mediante una cánula conectada a la mejilla.

Luego, esta preparación fue adaptada para evaluar animales de 1 día de edad (Bordner, Molina, & Spear, 2008). En esta oportunidad los animales fueron colocados en una posición supina completa (Figura 4, extraído de Pautassi et al., 2015). Esta adaptación de la prueba se basa en el hecho de que los movimientos de las extremidades anteriores y la cabeza son comportamientos espontáneos en el repertorio de los cachorros que normalmente aumentan la probabilidad de contacto con el pezón de la madre.



Figura 4. Procedimiento operante empleado por Bordner et al. (2008) para evaluar la auto-administración operante de etanol en ratas de 1 día de edad. Las crías, ubicadas en posición supina, y fijadas a la superficie mediante el uso de un chaleco, pueden activar un sensor ubicado sobre ellas mediante el movimiento de cabeza y patas delanteras. La activación del sensor produce la liberación de etanol en la cavidad oral del animal.

El modelo continuó modificándose para poder evaluar la autoadministración operante en ratas de entre 13-14 días de edad. En el estudio de

Pautassi, Truxell, Molina, and Spear (2008) los animales fueron colocados en una pequeña caja (10 × 10 × 12 cm) equipada con un disco sensible al tacto que estaba ligeramente elevado del suelo. Las crías se sometieron a sesiones diarias con PD14-16 (20 min) y cada contacto con el disco produjo una infusión intraoral (3 o 5 μ l) de etanol (3 o 5% v/v). El fundamento subyacente era emplear un comportamiento objetivo simple, lo que minimizaba la duración del entrenamiento y permitía la ingestión de etanol y la percepción de sus efectos postingestivos. Ponce y col. (2008) también analizaron la autoadministración operante en crías de 14-16 días de edad, pero en su preparación la conducta operante consistió en introducir el hocico en un orificio detrás del cual se encontraba un sensor sensible al tacto que activaba la infusión de etanol (respuesta de hociqueo o nose-poke).

Como puede apreciarse, el desarrollo de estas pruebas se realizó a partir de considerar las capacidades sensoriales y comportamentales de los sujetos en estudio. La capacidad de aprendizaje operante, muchas veces señalada como un tipo de aprendizaje superior que surge tardíamente en el desarrollo, pudo ser explorada incluso en animales recién nacidos tomando las capacidades que estos organismos poseen en su etapa de desarrollo particular. Al igual que Rovee-Collier con su adaptación del modelo de reforzamiento conjugado (condicionamiento empleando un móvil y luego un tren de juguete), la prueba de autoadministración operante fue variando con el fin de continuar evaluando el mismo proceso, a saber la búsqueda voluntaria del reforzador mediante una conducta propia de la etapa del desarrollo. Actualmente se cuenta con un modelo que permite el abordaje del aprendizaje operante en ratas de entre 1 y 20 días post-natales, contemplando las particularidades de cada etapa ontogenética.

OBJETIVOS

En función de todo lo expuesto es que el interés que guía el desarrollo de esta tesis doctoral radica en profundizar en el conocimiento respecto a las capacidades de aprendizaje ligadas a la memoria explícita que poseen ratas infantiles, particularmente respecto al aprendizaje contextual. Su estudio resulta importante no sólo por el hecho de profundizar en la discusión planteada, cuyo avance posibilita ampliar el conocimiento de esta etapa del desarrollo, sino también por las implicancias clínicas que se derivan de los resultados obtenidos en muchos de los estudios con infantes (Kim & Richardson, 2010).

Consideramos importante discriminar dos instancias de aprendizaje y evaluar la dependencia contextual de la respuesta operante para cada una de ellas. La primera es la adquisición de la respuesta operante. Lo que interesa en este punto es conocer el efecto que tienen las manipulaciones contextuales realizadas posteriormente al entrenamiento (fase de adquisición) sobre la ejecución de la respuesta operante al momento de la prueba. También resulta relevante conocer cómo afectan diferentes intervalos de retención a la expresión de la respuesta aprendida. Por otro lado, interesa indagar respecto a la implicancia del aprendizaje contextual en una segunda instancia de aprendizaje, a saber, la extinción de la respuesta operante. El interés por estudiar la extinción surge a partir de que muchos de los autores que postulan la incapacidad para aprender del contexto durante la infancia, también sostienen que los mecanismos de la extinción difieren entre sujetos infantiles y adultos, proponiendo una disociación en el desarrollo (Kim & Richardson, 2007a, 2007b, 2010), y planteando nuevamente que la inmadurez del sistema hipocampal puede explicar estas diferencias ontogenéticas. A los fines del objetivo central del trabajo, resulta interesante explorar la especificidad contextual de la extinción, aspecto ampliamente aceptado en organismos adultos (Bouton, 2002, 2004).

OBJETIVO GENERAL

- Explorar la capacidad de aprendizaje contextual que poseen ratas infantiles pre-destetadas, empleando un paradigma de condicionamiento operante con reforzadores apetitivos, a partir de una perspectiva ecológica del desarrollo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el efecto de la exposición no reforzada al contexto previa a la prueba sobre la respuesta operante.
2. Evaluar el efecto del cambio de contexto entre el entrenamiento y la prueba sobre la respuesta operante, teniendo en cuenta diferentes intervalos de retención del aprendizaje.
3. Evaluar el efecto de renovación de la respuesta operante luego de la extinción.
4. Evaluar el restablecimiento de la respuesta operante y su especificidad contextual.

MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

Sujetos. Se utilizaron ratas Wistar infantiles, entre 14 y 16 días postnatales (DP14-16) al inicio del experimento. Para todos los experimentos, los sujetos fueron asignados cuasi-aleatoriamente a los grupos tratamiento. Se tomaron precauciones para evitar la sobrerrepresentación de una camada en particular en alguno de los grupos (Holson & Pearce, 1992). De este modo, no más de un macho y una hembra de la misma camada fueron asignados a la misma condición de tratamiento. Los animales fueron criados en el bioterio del Laboratorio de Psicología Experimental de la Facultad de Psicología de la Universidad Nacional de Córdoba (UNC), bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12hs. (luz encendida de 08:00 a 20:00hs), con una temperatura constante de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$. Los animales tuvieron acceso continuo a comida (GEPISA, Grupo Pilar, Córdoba, Argentina) y agua corriente a través de botellas. Los nacimientos fueron controlados diariamente y el día del parto fue considerado como el DP0. Las crías permanecieron alojadas junto a su madre y hermanos hasta el inicio de cada fase experimental. Una vez finalizada la sesión experimental fueron devueltos a su caja.

Procedimiento de canulación. Las diferentes sustancias empleadas en los experimentos fueron infundidas intraoralmente través de una cánula de polietileno (PE, Clay Adams, PE 10) de 5cm de largo, colocada en la mejilla de la cría. Estas cánulas presentaban en uno de sus extremos un borde generado con calor que servía como tope (diámetro externo de 1,2 mm). En el extremo opuesto al borde se insertaba una delgada aguja, con la que luego se atravesaba la mejilla interna del animal. El borde de la cánula actuaba como tope en la parte interna de la mejilla, mientras que el resto de la cánula salía de la cavidad oral. Como ya ha sido demostrado por Spear, Specht, Kirstein, & Kuhn (1989) este procedimiento resulta mínimamente estresante para las ratas infantiles, y ha sido ampliamente descrito en otros trabajos (Dominguez et al., 1993; Dominguez et al., 1998; Miranda-Morales et al., 2010, 2012; Pepino, Kraebel, Lopez, Spear, & Molina, 1998; Pepino, Lopez, Spear, & Molina, 1999; Ponce et al., 2008).

Aparatos y software. Se empleó un set de condicionamiento operante (Miranda-Morales et al., 2012) que consistió en dos cajas de condicionamiento especial (12

cm largo x 12 cm ancho x 15 cm alto) las cuales poseían un orificio (1 cm de diámetro) en la pared lateral izquierda (Experimentos 1, 2 y 3) o dos en ambas paredes laterales (Experimentos 4 al 9). Los mismos estaban rodeados por una arandela de metal (de superficie lisa en el caso de la arandela de la pared izquierda y rugosa para la arandela de la derecha). Detrás del orificio se encontraba un sensor sensible al tacto (Model E11× Evaluation Board; Quantum Research Group, Pittsburgh, PA). Este fue ubicado del lado izquierdo en los Experimentos 1 al 5 y del lado derecho en los experimentos 6 al 9. Cuando el animal perteneciente al grupo emparejado introducía su hocico en el orificio (respuesta de hociqueo), mordía la arandela, o hacía contacto con parte de su cuerpo (ej. patas delanteras), se producía la activación del sensor, que encendía una bomba de infusión. Una jeringa de 1ml de capacidad se colocaba en la bomba y, mediante una cánula (PE-50) de aproximadamente 50 cm de largo, se conectaba con la cánula ubicada en la mejilla del animal. Cuando la bomba era activada, empujaba el émbolo de la jeringa y de este modo administraba un pulso del reforzador en la cavidad oral del sujeto (el volumen administrado varió entre experimentos y se describe en el apartado de materiales y métodos específico de cada uno). Cada pulso tuvo una duración de dos segundos, y el número de respuestas operantes durante ese intervalo fue registrado usando un software especialmente diseñado (ITCOMM, Córdoba, Argentina). Esto quiere decir que el número de respuestas realizadas por el animal puede ser mayor al número de pulsos administrados debido a que durante el tiempo que implica la administración del reforzador los animales continúan realizando la respuesta y esto es detectado por el sensor y es tomado como respuesta operante. Éste software también se empleó para programar varias de las características del experimento (duración de las sesiones experimentales, intervalos de administración del reforzador y entre reforzadores, esquemas de reforzamiento, etc.). El set de condicionamiento operante empleado puede verse en la Figura 5.

Las diferentes fases experimentales tuvieron lugar en una sala experimental iluminada con luz blanca fluorescente, con ruido de fondo bajo y constante generado por un extractor de aire.



Figura 5. Set de condicionamiento operante empleado para la presente tesis doctoral. Se trata de dos cajas (12x12x15), una para el sujeto emparejado y otra para el control tipo yoked. Estas cajas poseen un orificio detrás del cual se ubica un sensor sensible al tacto que al ser activado enciende una bomba de infusión que libera el reforzador al interior de la cavidad oral de los animales.

Procedimiento experimental general. Al inicio de cada día del experimento (tanto para condicionamiento, extinción, exposición a contexto y pruebas), dos animales del mismo sexo y camada, fueron separados de su madre y trasladados en una caja de transporte de paredes oscuras a la sala experimental, donde fueron canulados. Luego se colocaron en una caja de Plexiglas, idéntica a la usada para su transporte (caja de alojamiento, 45 cm de alto × 20 cm ancho × 20 cm de largo, forrada con viruta de pino) durante el tiempo correspondiente hasta ser trasladadas nuevamente a la sala experimental para dar inicio al experimento. La temperatura en la caja de alojamiento se mantuvo constante entre los 31^o-32^oC a través del uso de una almohadilla térmica. Inmediatamente antes de iniciar cualquiera de las fases experimentales, a los animales se les estimuló la región anogenital empleando un algodón con el fin de favorecer la micción y defecación y evitar estos procesos durante la fase experimental. Posteriormente fueron pesados (± 0.01 g, Ohaus Traveler TA302) y colocados en la caja de condicionamiento.

Condicionamiento. Durante esta fase, los animales fueron colocados en las cajas de condicionamiento, las cánulas se conectaron a la bomba y se inició el entrenamiento. Cada vez que el sujeto perteneciente al grupo emparejado realizaba la respuesta operante, recibía un pulso del reforzador. Se empleó un

control tipo no emparejado o yoked. Este sujeto (del mismo sexo y la misma camada que el sujeto emparejado) fue colocado simultáneamente en una caja de entrenamiento idéntica a la descrita, y recibió la misma manipulación que el sujeto emparejado. Sin embargo la administración del reforzador fue independiente de su conducta. Ambos recibieron el reforzador sólo cuando el animal del grupo emparejado realizaba la respuesta operante. Durante el primer minuto del entrenamiento, y en el caso de que los animales no realizaran la respuesta, se administraron pulsos gratis al segundo 0, 30 y 60 para favorecer la respuesta exploratoria y mejorar la probabilidad de que los animales realicen la operante. Inmediatamente después de la sesión de entrenamiento los animales fueron pesados nuevamente para calcular la cantidad consumida del reforzador, operacionalmente definida como el peso corporal ganado (PCG ó BWG por sus siglas en inglés, en gramos): peso post-condicionamiento - peso pre-condicionamiento. Además del peso diario y el consumo del reforzador durante el entrenamiento (PCG/BWG), la variable dependiente bajo consideración consistió en el número de respuestas operantes desplegada por cada sujeto en las diferentes fases experimentales. Una vez finalizada la sesión experimental, las cajas fueron limpiadas usando un algodón embebido en agua destilada y secadas con una servilleta de papel, quedando preparadas para los próximos animales.

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG-BWG) y el número de respuestas operantes durante las diferentes fases experimentales. La Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) fue el factor constante a lo largo de los diferentes experimentos y siempre se tomó como variable inter-grupo. Cuando las interacciones de los ANOVAs mixtos alcanzaron un resultado significativo se realizaron ANOVAs secuenciales, seguidos de pruebas post-hoc de Duncan para establecer el *loci* de efectos significativos. Se adoptó un criterio de rechazo de $p < .05$. Se realizaron análisis preliminares para todos los experimentos incluyendo las variables Sexo y Tipo de contexto (para aquellos experimentos en los que se emplean diferentes contextos). Estos análisis no arrojaron efectos principales significativos ni interacciones con otros factores. Por este motivo, los análisis que se realizaron posteriormente no incluyeron los factores mencionados, los cuales fueron colapsados.

PRIMERA PARTE: AJUSTE DE LOS ASPECTOS PARAMÉTRICOS

Tomando aspectos generales de las características procedimentales de los experimentos reportados por Ponce et al. (2008) y Miranda-Morales et al. (2012), los primeros experimentos fueron diseñados con el fin de establecer los parámetros efectivos para generar un aprendizaje operante robusto y replicable bajo las condiciones particulares de nuestro laboratorio.

EXPERIMENTO 1: ELECCIÓN DE REFORZADOR

El objetivo del presente experimento fue evaluar el nivel de refuerzo de diferentes sustancias (Sacarosa, compuesto NaCl-Sac y Leche chocolatada), con el fin de seleccionar aquella capaz de producir la mayor cantidad de respuestas operantes entre los animales del grupo emparejado, y favorecer una rápida adquisición del aprendizaje.

Materiales y métodos

Sujetos. Se empleó un total de 32 ratas Wistar infantas, pertenecientes a 4 camadas (DP14 al iniciar el experimento) divididas en 8 grupos. Los grupos se constituyeron en función de la Condición de aprendizaje (Emparejados y Yoked) y los diferentes Reforzadores (Sacarosa 5%, Sacarosa 7%, NaCl/Sac y Leche chocolatada). Se utilizó un $n=4$ por grupo, 2 machos y 2 hembras. Las condiciones de crianza fueron detalladas previamente en el apartado de materiales y métodos generales.

Sustancias. Las sustancias empleadas como reforzadores fueron: Sacarosa al 5% y 7% p/v, un compuesto de NaCl al 0.9% p/v y Sacarosa al 6% p/v, las cuales fueron diluidas en agua destilada, y Leche Chocolatada (Cindor).

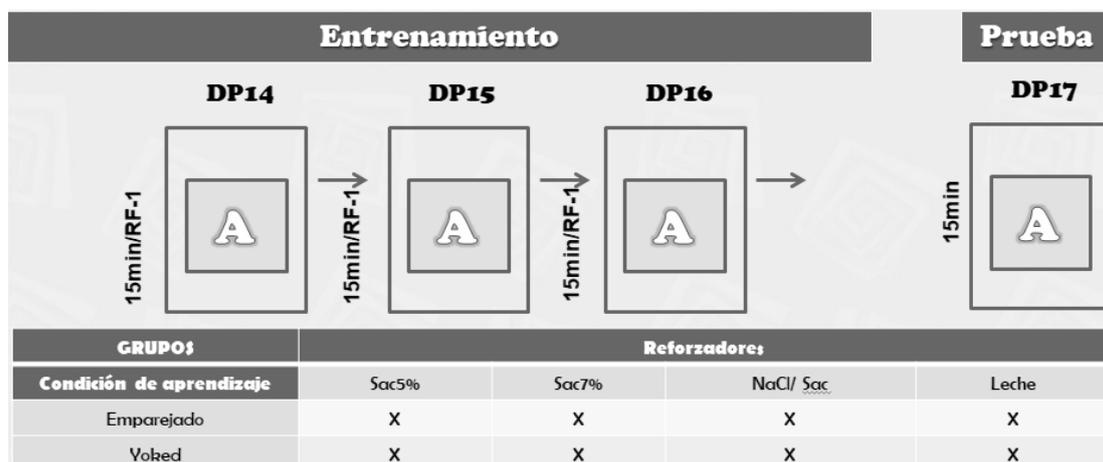
Procedimiento. Antes de iniciar cada sesión (tanto las sesiones de condicionamiento como la de prueba) las crías fueron separadas de su madre, canuladas y colocadas de a pares en la caja de alojamiento descrita previamente durante 30-40 minutos, con el fin de favorecer la adaptación a la cánula.

Condicionamiento. Se llevaron a cabo tres sesiones diarias de condicionamiento de 15 minutos de duración cada una. El condicionamiento inició el DP14 y se extendió hasta el DP16. Se empleó un esquema de reforzamiento de razón fija 1 (RF-1), lo que significa que cada vez que el animal realizaba una respuesta operante, recibía un pulso del reforzador.

Prueba. La prueba se realizó el DP17 y también tuvo una duración de 15 minutos. Esta fue idéntica al condicionamiento, es decir, los animales fueron colocados en las cajas de condicionamiento, replicando los mismos pasos del condicionamiento, pero en esta oportunidad el reforzador no fue entregado. El diseño del experimento puede verse en el Esquema 1.

Esquema 1

Diseño experimental del Experimento 1: Elección del reforzador



El presente experimento tuvo como objetivo seleccionar el reforzador capaz de producir la mayor cantidad de respuestas operantes entre los animales del grupo emparejado, y favorecer una rápida adquisición del aprendizaje. Se conformaron 8 grupos en función de la Condición de aprendizaje y los diferentes Reforzadores. La letra "A" hace referencia al contexto el cual se desarrollaron las diferentes fases experimentales.

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos separados para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas operantes durante las fases de condicionamiento y prueba para cada reforzador. Se empleó un diseño de factor único con dos niveles, siendo dicho factor la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked), que siempre fue tomada como variable inter-sujeto. Para el peso corporal, el Día (DP14-17) fue incluido como variable intra-grupo. En el caso del condicionamiento, se usaron ANOVAs mixtos separados donde los Días de condicionamiento (DP14-16) fueron incluidos como variable

intra-grupo para el análisis del consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas operantes. En este último caso también se incluyeron Bloques de 5 minutos (Bloque 1 a Bloque 3) como variables intra-sujeto. El número de respuestas operantes durante la fase de prueba se analizó de la misma manera que durante el condicionamiento, aunque en este caso sólo se contemplaron los Bloques de 5 minutos (Bloque 1 al 3) como variable intra-grupo.

Resultados

Peso corporal y consumo del reforzador (PCG/BWG). Para el caso de Sacarosa 5% se observó un aumento en el peso de los animales a lo largo de los días ($F_{(3, 18)} = 66.96$, $p < .01$) sin diferencias entre los animales del grupo emparejado y sus controles. El consumo tampoco difirió entre los grupos como era esperable, y aunque se incrementó a lo largo de los días, no alcanzó la significación estadística ($F_{(2, 12)} = 3.55$, $p = .06$).

En el caso de Sacarosa 7%, también se observó un aumento del peso a lo largo de los días ($F_{(3, 18)} = 40.75$, $p < .01$) sin diferencias entre los grupos. El consumo no varió a lo largo de los días de condicionamiento.

Para el compuesto NaCl/Sac, al igual que con el resto de las sustancias, se observó un aumento del peso ($F_{(3, 18)} = 83.56$, $p < .01$) que no difirió entre los grupos. No se observaron diferencias en el consumo del reforzador.

Finalmente, respecto a los valores para Leche chocolatada, se observó un aumento del peso ($F_{(3, 18)} = 61.72$, $p < .01$) y en esta oportunidad se evidenció un incremento significativo del consumo ($F_{(2, 12)} = 9.11$, $p < .01$), específicamente durante el último día de condicionamiento, donde se observa que el consumo fue mayor al de los dos días previos.

Los valores medios de consumo de los diferentes reforzadores a lo largo de los días de condicionamiento pueden apreciarse en la Tabla 2.

Tabla 2
Consumo de reforzadores durante el condicionamiento

Sacarosa 5%	Media (gr)	EEM±
DP14	0.02	0.02
DP15	0.09	0.03
DP16	0.14	0.07
Sacarosa 7%	Media (gr)	EEM±
DP14	0.11	0.04
DP15	0.20	0.04
DP16	0.11	0.03
NaCl/Sac	Media (gr)	EEM±
DP14	0.06	0.04
DP15	0.13	0.07
DP16	0.10	0.05
Leche chocolatada	Media (gr)	EEM±
DP14	0.07	0.03
DP15	0.09	0.04
DP16	0.27	0.08

Valores medios de consumo y sus desviaciones durante los tres días de condicionamiento para cada uno de los reforzadores. EEM hace referencia al error estándar de la media.

Número de respuestas operantes. La Figura 6 muestra el número de respuestas operantes realizadas durante los días de condicionamiento en función de los bloques de cinco minutos para cada uno de los reforzadores empleados (Figura 1a: Sacarosa 5%; Figura 1b: Sacarosa 7%; Figura 1c: Compuesto NaCl/Sac; Figura 1d: Leche chocolatada). El análisis de los valores durante el condicionamiento para el caso de la Sacarosa 5% solo reveló un efecto principal de Bloque ($F_{(2, 12)} = 9.67, p < .05$), siendo el valor del primer bloque mayor que el de los otros. Para el caso de Sacarosa 7% no se observó ningún efecto significativo. Respecto al compuesto NaCl/Sac el ANOVA arrojó una interacción significativa entre Condición, Bloque y Día ($F_{(4, 24)} = 3.54, p < .05$). Sin embargo, el ANOVA posterior de una vía realizado para cada bloque en función de la condición de aprendizaje no reveló diferencias significativas entre los sujetos emparejados y sus respectivos controles a lo largo de los bloques y días. Finalmente, para el caso de la Leche chocolatada, sólo un efecto principal de bloque resultó significativo ($F_{(2, 12)} = 7.02, p < .05$), siendo el primer bloque más alto que el resto.

En la Figura 7 puede apreciarse el número de respuestas operantes para cada reforzador durante la fase de prueba en función de bloques de 5 minutos. Los ANOVAs realizados para las condiciones Sacarosa 5% y 7% así como para el

reforzador Leche chocolatada no arrojaron ningún efecto ni interacción significativa. Para el compuesto NaCl/Sac, el ANOVA mostró un efecto principal de Bloque ($F_{(2, 12)} = 4.96, p < .05$), siendo mayores los niveles de respuesta durante el primer bloque con respecto al resto.

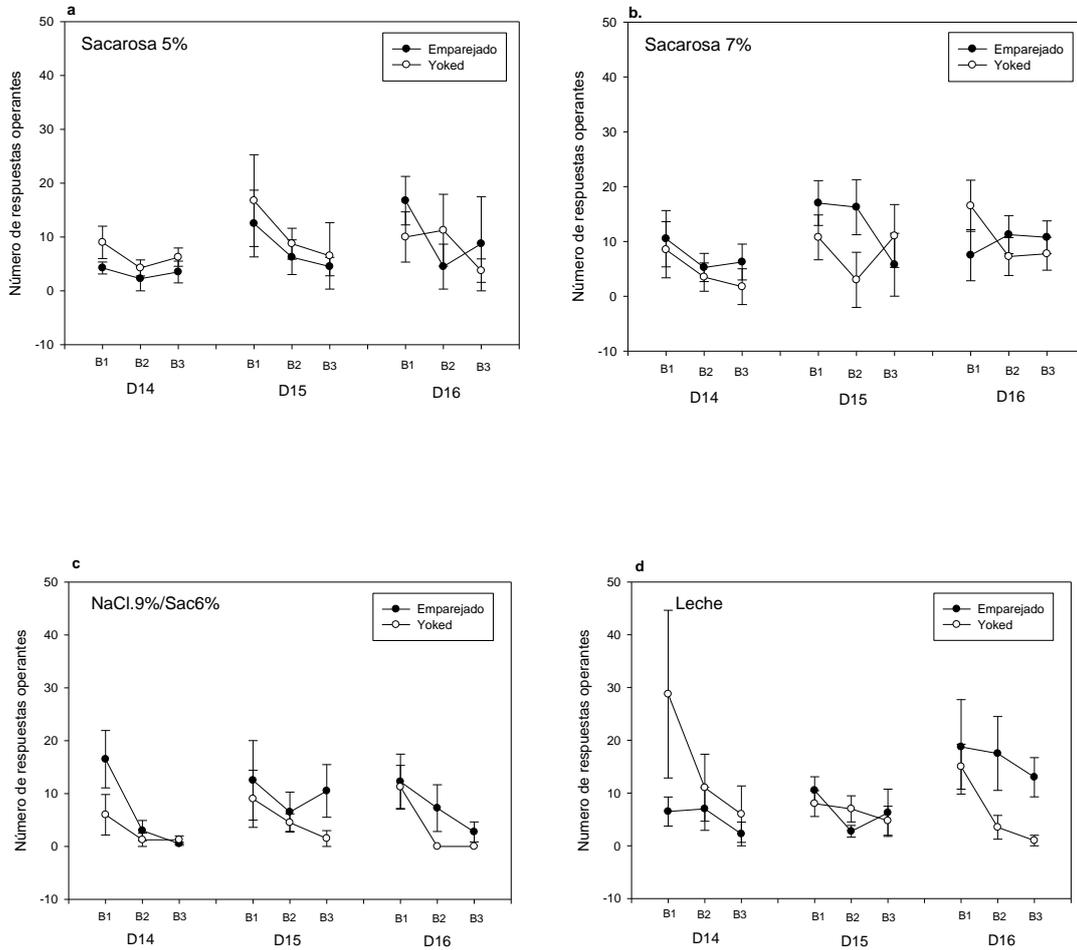


Figura 6. Número de respuestas operantes durante los tres bloques de cada día de condicionamiento en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) para los reforzadores Sacarosa 5% (a), Sacarosa 7% (b), compuesto NaCl 0.9% y Sacarosa 6% (c) y Leche chocolatada (d). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM).

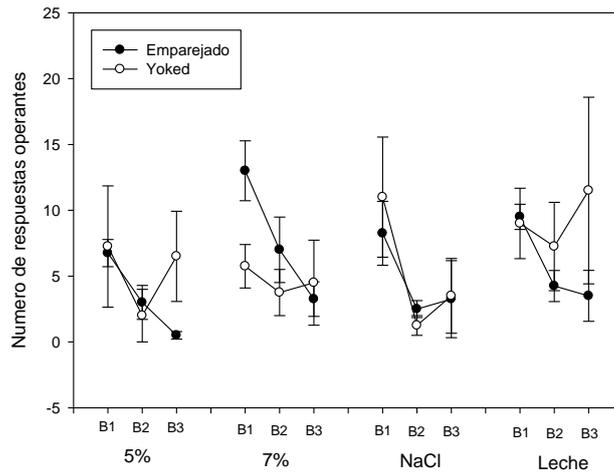


Figura 7. Número de respuestas operantes para cada reforzador durante la fase de prueba en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) a lo largo de tres bloques de 5 minutos. Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM).

Discusión preliminar

En el primer experimento se evaluaron diferentes reforzadores con el fin de seleccionar aquel que fuera capaz de facilitar el aprendizaje operante en ratas infantas bajo nuestras condiciones experimentales. En esta oportunidad se destinaron tres días de condicionamiento y uno de prueba. Estos ensayos tuvieron una duración de 15 minutos y siempre fueron precedidos por un intervalo de separación materna de 30-40 minutos de duración. Como puede apreciarse, bajo estas condiciones no fue posible observar una curva clara de adquisición de la respuesta operante, ni una evocación de esta al momento de la prueba. Sin embargo, es posible señalar que la leche chocolatada fue el reforzador más consumido, específicamente durante el último día de condicionamiento, lo que podría indicar que se trata de una sustancia apetitiva con capacidad de producir un efecto reforzante. Por otro lado, siguiendo antecedentes previos (Miranda-Morales et al., 2012; Ponce et al., 2008) se consideró la necesidad de un incremento en el tiempo de separación materna antes del inicio de la fase experimental. Un aspecto relevante que pudo ser observado durante el desarrollo del experimento fue que al momento de retirar a las crías de su caja generalmente éstas se encuentran lactando. Es probable que los animales al momento del condicionamiento estén

saciados y por ese motivo no consuman mayores cantidades del reforzador. Estas hipótesis fueron consideradas en el experimento siguiente.

EXPERIMENTO 2: SEPARACIÓN MATERNA Y VOLUMEN DE REFORZADOR ADMINISTRADO DURANTE EL CONDICIONAMIENTO

El siguiente experimento es una continuación de la exploración de los aspectos paramétricos. A partir de los datos observados en el experimento anterior, en esta oportunidad se evaluó el efecto de 3 horas de separación materna en lugar de 30 minutos, siguiendo la hipótesis de que un incremento en el intervalo entre el período de alimentación y el entrenamiento reduciría el posible estado de saciedad en los animales y de este modo promovería el consumo de los reforzadores al momento del condicionamiento. Asimismo, también se sometió a evaluación el volumen de reforzador administrado por pulso. En esta oportunidad, el condicionamiento se extendió hasta el DP17, por lo que el entrenamiento tuvo una duración de cuatro días. Como reforzadores se seleccionó la leche chocolatada, por tratarse del reforzador más consumido durante el experimento anterior, y se comparó su efectividad con el compuesto de NaCl/Sac.

Materiales y método

Sujetos. Se emplearon un total de 80 ratas Wistar infantiles pertenecientes a 10 camadas (DP14 al inicio del experimento). Éstas fueron divididas en 8 grupos en función de la Condición de aprendizaje (Emparejados y Yoked), Reforzadores (NaCl/Sac y Leche chocolatada) y Volumen del reforzador administrado por pulso (6 μ l y 17 μ l). Se utilizó un $n= 10$ animales por grupo, 5 machos y 5 hembras.

Sustancias. Como reforzadores se usó la leche chocolatada (Cindor) y el compuesto NaCl/Sac (NaCl 0.9% p/v y Sacarosa 6% p/v). Estas sustancias fueron administradas en dos volúmenes diferentes, a saber 6 μ l y 17 μ l por cada pulso.

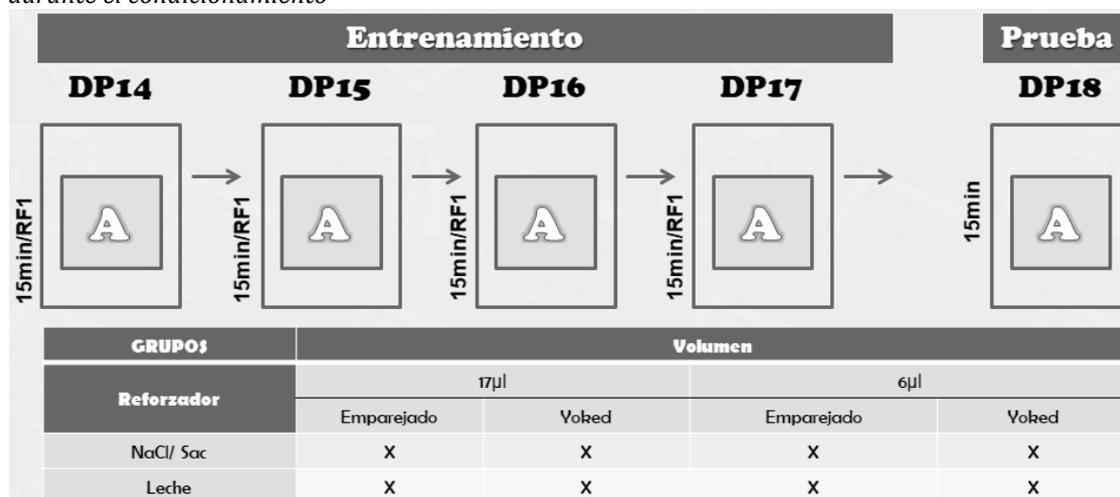
Procedimiento. Antes de iniciar cada una de las fases experimentales (tanto el condicionamiento como la prueba), los animales fueron separados de su madre, canulados, y colocados en la caja de alojamiento, por un lapso de 3 horas.

Condicionamiento. Se llevaron a cabo cuatro sesiones diarias de condicionamiento de 15 minutos de duración, iniciando el DP14. Al igual que en el experimento anterior, se empleó un esquema de reforzamiento RF-1, por lo que cada respuesta operante del animal emparejado fue seguida de un pulso del reforzador.

Prueba. La prueba se realizó el DP18 y también tuvo una duración de 15 minutos. En esta oportunidad los animales fueron expuestos al contexto de condicionamiento, pero el reforzador no fue entregado. El diseño experimental puede apreciarse en el Esquema 2.

Esquema 2

Diseño experimental del Experimento 2: Separación materna y volumen del reforzador administrado durante el condicionamiento



El presente experimento tuvo como objetivo seleccionar el reforzador y su volumen de administración capaz de producir la mayor cantidad de respuestas operantes entre los animales del grupo emparejado, y favorecer una rápida adquisición del aprendizaje. Se conformaron 8 grupos en función de la Condición de aprendizaje, el tipo de Reforzador y el Volumen por pulso administrado. La letra "A" hace referencia al contexto el cual se desarrollaron las diferentes fases experimentales.

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos separados para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas operantes durante las fases de condicionamiento y prueba para cada Reforzador (NaCl/Sac y Leche) y Volumen por pulso (6µl y 17µl). Se empleó un diseño de factor único con dos niveles, siendo dicho factor la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked), que siempre fue tomada como variable inter-sujeto. Para el análisis del peso corporal el factor Día de condicionamiento (DP14-18) fue tomado como variable intra-grupo. Para el análisis del consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas operantes durante el condicionamiento se emplearon

ANOVAs mixtos separados, para los cuales los Días de condicionamiento (DP14-17) se tomaron como variable intra-grupo. En el caso de la prueba, se llevó a cabo un ANOVA de una sola vía, teniendo en cuenta la Condición de aprendizaje como variable inter-grupo. En esta oportunidad, se consideró el número total de respuestas operantes para cada día del experimento.

Resultados

Peso corporal y consumo del reforzador (PCG/BWG). El ANOVA reveló un incremento significativo del peso corporal a lo largo de los días para todos los grupos [NaCl/Sac-17 μ l ($F_{(4, 72)} = 90.83, p < .01$), NaCl/Sac-6 μ l ($F_{(4, 72)} = 96.78, p < .01$), Leche-17 μ l ($F_{(4, 72)} = 84.74, p < .01$) y Leche-6 μ l ($F_{(4, 72)} = 142.48, p < .01$)].

Respecto al consumo, se observó que el consumo del reforzador en el grupo NaCl/Sac-17 μ fue mayor entre los animales del grupo emparejado ($F_{(1, 18)} = 8.33, p < .01$, Emparejado: Media= 0.29 gr, EEM \pm 0.03; Yoked: Media= 0.15 gr, EEM \pm 0.03), y que se incrementó a lo largo de los días ($F_{(3, 54)} = 3.89, p < .05$), siendo mayor el consumo durante los últimos dos días con respecto al primero.

Para la condición NaCl-6 μ l el ANOVA no arrojó ningún efecto ni interacción significativa.

Para el caso de la condición Leche-17 μ l nuevamente se observó una inesperada diferencia entre sujetos emparejados y yoked ($F_{(1, 18)} = 7.30, p < .05$, Emparejado: Media= 0.28 gr, EEM \pm 0.03 y Yoked: Media= 0.15 gr, EEM \pm 0.03). También se observó un incremento en el consumo a lo largo de los días ($F_{(3, 54)} = 4.73, p < .01$), donde nuevamente los últimos dos días de condicionamiento mostraron mayor consumo con respecto al primer día.

Por último, para el grupo Leche-6 μ l el ANOVA reveló un incremento del consumo a lo largo de los días ($F_{(3, 54)} = 9.06, p < .01$), donde se observa que el consumo del último día fue significativamente mayor que el de los tres días anteriores, y además el del tercero mayor que el del primer día.

Los valores de consumo medio a lo largo de los días para cada reforzador y volumen se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3

Consumo de reforzadores en dos volúmenes diferentes durante el condicionamiento

NaCl/Sac-17 μ	Media (gr)	EEM \pm
DP14	0.13	0.03
DP15	0.22	0.03
DP16	0.26	0.03
DP17	0.28	0.05
NaCl/Sac-6 μ	Media (gr)	EEM \pm
DP14	0.22	0.04
DP15	0.41	0.15
DP16	0.39	0.06
DP17	0.55	0.07
Leche-17 μ l	Media (gr)	EEM \pm
DP14	0.12	0.02
DP15	0.20	0.03
DP16	0.27	0.03
DP17	0.28	0.05
Leche-6 μ l	Media (gr)	EEM \pm
DP14	0.22	0.04
DP15	0.27	0.04
DP16	0.38	0.06
DP17	0.54	0.07

Valores medios de consumo y sus desviaciones durante los cuatro días de condicionamiento para cada reforzador y volumen. EEM hace referencia al error estándar de la media.

Número de respuestas operantes. En la Figura 8 se aprecia el número de respuestas operantes durante la fase de condicionamiento para las diferentes condiciones: NaCl-17 μ l (Figura 8a), NaCl-6 μ l (Figura 8b), Leche-17 μ l (Figura 8c), Leche-6 μ l (Figura 8d). Los ANOVAs realizados para NaCl-17 μ l, Leche-17 μ l y NaCl-6 μ l no arrojaron ningún efecto ni interacción significativa. En el caso de Leche-6 μ l se observó una interacción significativa entre Condición de aprendizaje y Días de condicionamiento ($F_{(3, 54)} = 11.20, p < .05$). La prueba post-hoc reveló que durante el DP17 los animales del grupo emparejado respondieron significativamente más que los controles. Por otro lado, también se observó que los niveles de respuesta de los últimos dos días de condicionamiento de los animales emparejados fueron mayores a los de los dos primeros días, y que difirieron entre sí. Esto no se observó entre los animales del grupo control.

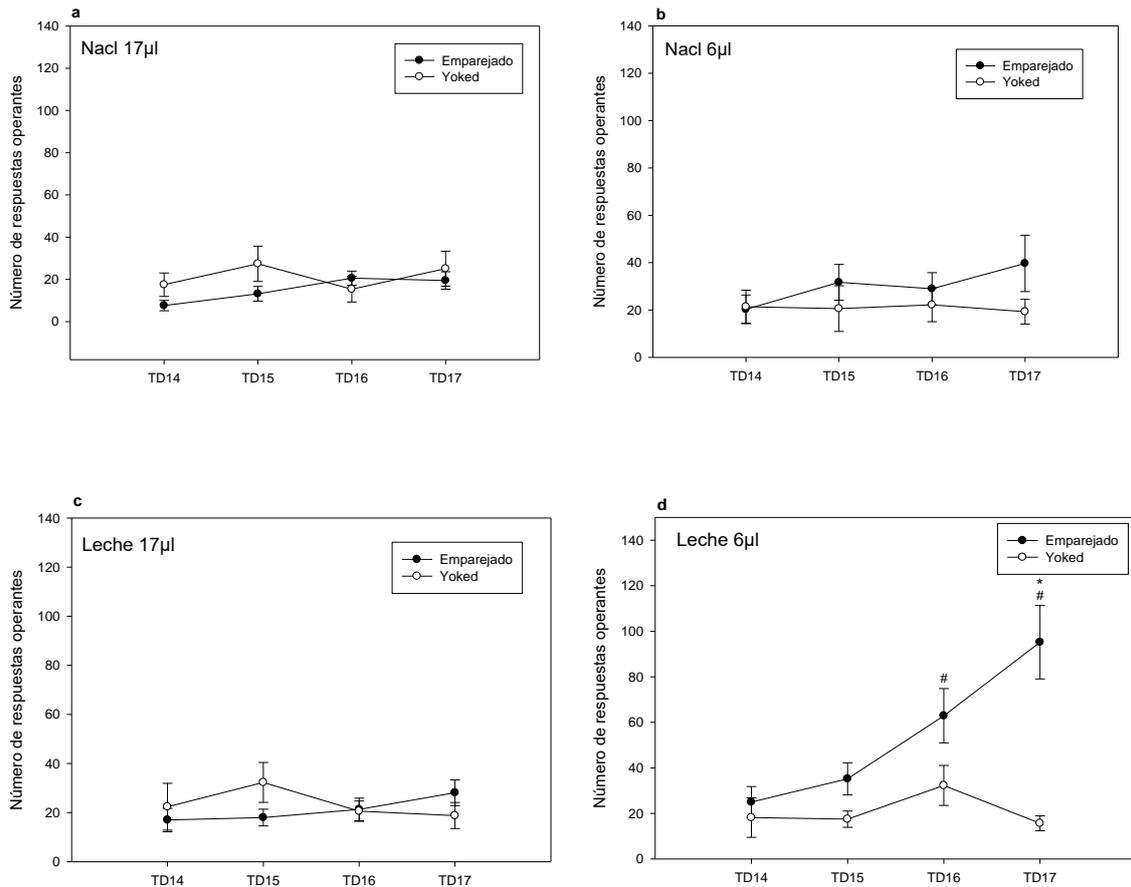


Figura 8. Número de respuestas operantes durante la fase de condicionamiento en función de la condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) para las diferentes condiciones: NaCl-17µl (**a**), NaCl-6µl (**b**), Leche-17µl (**c**), Leche-6µl (**d**). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM). (*) Diferencia significativa entre grupo emparejado y control. (#) Diferencia significativa entre días.

En la Figura 9 se observa el número de respuestas operantes durante la fase de prueba para cada condición evaluada. En el caso de NaCl-17µl, se observó que el grupo control respondió significativamente más que los animales del grupo emparejado ($F_{(1, 18)} = 6.50, p < .05$). No se observaron efectos principales ni interacciones significativas para las condiciones de Leche-17 µl, NaCl-6µl ni de Leche-6µl.

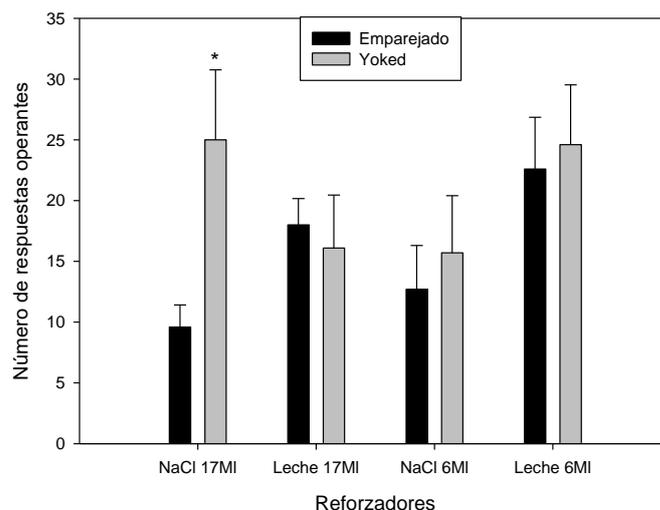


Figura 9. Número de respuestas operantes durante la fase de prueba en función de la condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) para cada reforzador. Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM). (*) Diferencia significativa entre grupo emparejado y control.

Discusión preliminar

Como puede observarse, a pesar de que durante la prueba no fue posible detectar la expresión de la respuesta operante aprendida, el empleo de leche chocolatada como reforzador, administrada en un volumen de 6µl por pulso, fue efectiva para generar una clara curva de adquisición. Se observó que los animales del grupo emparejado incrementaron progresivamente el número de respuesta a lo largo de los días de condicionamiento, mientras que este perfil no se expresó entre los animales del grupo yoked, a pesar de que el consumo del reforzador fue idéntico entre ambos grupos. Es importante señalar que en esta oportunidad los animales tuvieron un periodo de separación materna más amplio al utilizado en el Experimento 1, que parece haber favorecido la expresión del aprendizaje. Finalmente, cabe mencionar que la única diferencia significativa al momento de la prueba se debió a que los animales del grupo control pertenecientes al grupo NaCl-17µl respondieron significativamente más que los animales del grupo emparejado. Este resultado fue inesperado y no podríamos ofrecer una explicación que dé cuenta del mismo. A partir de estos resultados se decidió emplear la leche chocolatada como reforzador a un volumen de 6µl por pulso en el experimento siguiente. Asimismo, se adoptó un intervalo de separación materna prolongado.

SEGUNDA PARTE: APRENDIZAJE CONTEXTUAL DURANTE LAS FASES DE ADQUISICIÓN Y EXTINCIÓN

Luego de establecer los parámetros más efectivos para generar una curva de adquisición de la respuesta operante, la segunda etapa de la tesis se enfocó en el abordaje del objetivo principal del trabajo, estudiar la capacidad de aprendizaje contextual en ratas infantas pre-destetadas empleando un paradigma de condicionamiento operante. La evaluación del aprendizaje contextual se contempló en dos instancias del proceso de aprendizaje. Por un lado se estudió la influencia del aprendizaje contextual durante la fase de adquisición sobre la evocación de la respuesta aprendida. Se ha observado que en ratas adultas, el contexto cumple un rol clave en la recuperación de la respuesta aprendida posterior a la adquisición (Bouton & Todd, 2014). Asimismo, también se ha resaltado la importancia de las claves contextuales en la extinción de la respuesta, entendiendo este proceso como un segundo aprendizaje altamente dependiente de contexto (Bouton, 2002, 2004). Sin embargo, el aprendizaje contextual no ha sido explorado en ratas infantas empleando condicionamiento operante, ni se ha discriminado su participación en estas dos instancias. Con el fin de evaluar la participación del aprendizaje contextual en las dos instancias señaladas se diseñaron diferentes experimentos cuyas manipulaciones sobre las claves contextuales tenían el objetivo de afectar la expresión de la respuesta operante. Específicamente, los Experimentos 3 y 5 fueron diseñados para responder al objetivo de evaluar el efecto de la exposición no reforzada al contexto previa a la prueba sobre la respuesta operante (Objetivo específico 1); los Experimentos 4 y 6 fueron diseñados para evaluar el efecto del cambio de contexto entre el entrenamiento y la prueba sobre la respuesta operante, teniendo en cuenta diferentes intervalos de retención del aprendizaje (Objetivo específico 2); los Experimentos 4C y 6 también fueron diseñados para evaluar el efecto de renovación de la respuesta operante luego de la extinción (Objetivo específico 3); finalmente, los Experimentos 7 y 8 fueron diseñados para evaluar el restablecimiento de la respuesta operante y su especificidad contextual (Objetivo específico 4).

EXPERIMENTO 3: EXPOSICIÓN NO REFORZADA AL CONTEXTO

El objetivo del siguiente experimento fue evaluar el efecto de la exposición no reforzada al contexto de condicionamiento (extinción contextual) tras la fase de entrenamiento, sobre la respuesta operante. Pearce & Hall (1979, Experimento 1) observaron que animales adultos condicionados en un paradigma operante, redujeron el nivel de su respuesta operante cuando posteriormente al entrenamiento fueron expuestos al contexto en ausencia del reforzador, mientras que los animales no expuestos, o que tuvieron el reforzador disponible durante esta fase, no mostraron reducción en la respuesta. Asimismo, evidenciaron que la señalización del reforzador empleando una clave discreta durante la fase de exposición también producía la reducción de la respuesta (Experimento 2). Estos resultados fueron interpretados como evidencia a favor del supuesto de que existe una asociación entre el contexto y el reforzador que regula la expresión de la respuesta operante. La exposición no reforzada al contexto, así como la presentación señalizada del reforzador podrían haber debilitado la asociación contexto-reforzador y de este modo afectar la capacidad del contexto de evocar la respuesta operante aprendida en el mismo. A partir de los resultados de este trabajo se diseñó un experimento similar en ratas infantas.

De acuerdo con los resultados reportados, si los sujetos infantas son capaces de aprender del contexto y, tal como se observa en las ratas adultas, el contexto regula la expresión del aprendizaje operante, se espera que la exposición no reforzada al contexto (extinción contextual) produzca una reducción en la respuesta operante durante la prueba. El siguiente experimento exploró este efecto entre ratas infantas. En esta oportunidad, además de usar las características paramétricas que previamente demostraron ser efectivas para generar la curva de aprendizaje operante en ratas infantas, y siguiendo trabajos en los cuales se muestra que las ratas infantas son más sensibles a las claves olfativas que a los aspectos visuales como parte del contexto (Revilla, Arias, & Spear, 2013; Revilla et al., 2015), en el presente experimento también se emplearon claves olfativas para enriquecer las características contextuales. Por otro lado, se redujo el tiempo de

separación materna (2 horas a partir de este experimento) y se agregaron dos sesiones de condicionamiento por día.

Materiales y métodos

Sujetos. Se emplearon 40 ratas Wistar infantiles pertenecientes a 10 camadas (DP14 al inicio del experimento) divididas en 4 grupos. Los grupos se constituyeron en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Extinción al contexto (EXT y N-EXT). Se utilizó un $n= 10$ animales por grupo, 5 machos y 5 hembras para cada grupo de la condición EXT, y 6 machos y 4 hembras para cada grupo de la condición N-EXT.

Sustancias. Se empleó leche chocolatada (Cindor) como reforzador, en un volumen de 6 μ l por pulso. Se utilizó esencia de almendra en una concentración de 0.1% v/v (Esencia del Boticario, Córdoba, Argentina) como clave olfativa para señalar el contexto durante el condicionamiento, la fase de extinción y la prueba. La misma fue diluida en agua destilada. Se distribuyó 1ml de la esencia sobre cada pieza de algodón adherida a las tapas de las cajas de entrenamientos y prueba.

Procedimiento. Al inicio de cada fase experimental, las crías (un sujeto emparejado y su control) fueron separados de la camada, trasladados a la sala experimental donde fueron marcados y canulados. Posteriormente se los colocó en la caja de alojamiento por un período de 2 horas. Transcurridas las mismas, los animales fueron llevados a la sala experimental, donde fueron estimulados, pesados y colocados en las cajas de condicionamiento para dar inicio a la sesión experimental.

Condicionamiento. El entrenamiento inició el DP14 y se extendió hasta el DP17. Se llevaron a cabo dos sesiones diarias de condicionamiento de 10 minutos de duración. Las mismas siempre estuvieron precedidas por 2 horas de separación materna. Para cada sesión se empleó un esquema de reforzamiento de RF-1.

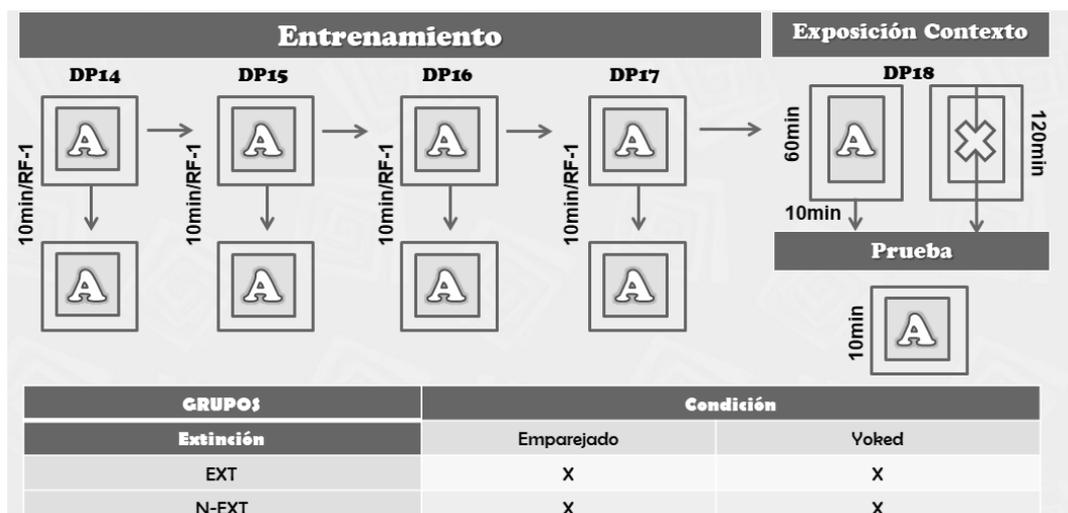
Exposición no reforzada al contexto. El DP18, y luego de una hora de separación materna, los animales del grupo EXT fueron colocados en la caja de condicionamiento por un período de 60 minutos. En esta oportunidad el orificio

con su correspondiente arandela fueron cubiertos con el fin de impedir que los sujetos realizaran la conducta operante y extinguieran la respuesta. Finalizada esta etapa, los animales fueron trasladados a la caja de alojamiento donde permanecieron por un periodo aproximado de 5-10 minutos, mientras la sala era acondicionada para realizar la prueba. Los animales del grupo N-EXT permanecieron 2 horas en la caja de alojamiento, y no fueron expuestos al contexto antes de la prueba.

Prueba. A los pocos minutos de finalizar la exposición al contexto, los animales del grupo EXT fueron nuevamente trasladados a la sala experimental, estimulados, pesados, y colocados en las cajas de entrenamiento. En esta oportunidad el orificio fue descubierto, permitiendo la ejecución de la respuesta operante. También se conectó la cánula a la bomba de infusión, aunque esta no fue activada. La prueba tuvo una duración de 10 minutos y fue similar al condicionamiento, aunque en esta oportunidad no se administró el reforzador. Para los animales del grupo N-EXT la prueba fue idéntica, pero en el caso de este grupo, como se señaló, no hubo previamente una exposición al contexto sino que permanecieron en la caja de aislamiento antes de la misma. El diseño experimental puede apreciarse en el Esquema 3.

Esquema 3

Diseño experimental del Experimento 3: Exposición no reforzada al contexto



El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de la exposición no reforzada al contexto previa a la prueba sobre la respuesta operante (Objetivo específico 1). Se constituyeron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje y la Extinción del contexto. La letra “A” indica el contexto empleado. La “X” señala que un grupo (N-EXT) no atravesó la fase de exposición al contexto.

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos separados para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas durante las fases de condicionamiento y prueba. Se empleó un diseño factorial 2X2 siendo Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) uno de los factores y Extinción al contexto (EXT y N-EXT) el otro. Ambos factores siempre fueron tomados como variable inter-grupo para todos los análisis. Para el análisis de peso corporal el factor Día (DP14 al 18) fue tomado como variable intra-grupo. Para el consumo del reforzador y el número de respuestas operantes durante el condicionamiento, los Días de condicionamiento (DP14, 15, 16 y 17) y la Sesión (Sesión 1 y 2) fueron tomados como variable intra-grupo. Para el análisis del número de respuestas operantes durante la fase de prueba también se empleó un ANOVA mixto, donde se tomó la variable Bloque de 2 minutos (Bloque 1 al Bloque 5) como variable intra-grupo.

Resultados

Peso corporal y consumo del reforzador (PCG/BWG). El ANOVA reveló un aumento progresivo del peso corporal, independientemente de los grupos ($F_{(4, 144)} = 89.69, p < .01$). Asimismo, se observó un aumento progresivo en el consumo del reforzador a lo largo de los días ($F_{(3, 108)} = 50.90, p < .05$) y las sesiones ($F_{(1, 36)} = 9.12, p < .01$), también independientemente de los grupos. Los valores medios de consumo se pueden apreciar en la Tabla 4.

Tabla 4
Consumo durante las diferentes sesiones de condicionamiento

	Sesión 1		Sesión 2	
	Media (gr)	EEM±	Media (gr)	EEM±
DP14	0.10	0.02	0.09	0.01
DP15	0.17	0.02	0.22	0.02
DP16	0.25	0.01	0.30	0.02
DP17	0.27	0.03	0.37	0.03

Valores medios de consumo y sus desviaciones para cada sesión en los diferentes días de condicionamiento. EEM hace referencia al error estándar de la media.

Número de respuestas operantes. En la Figura 10 se observa el número de respuestas operantes durante el condicionamiento (Figura 10a) y la prueba (Figura 10b) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y la

Extinción al contexto (EXT y N-EXT). Durante el condicionamiento, el ANOVA reveló un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 36)} = 7.84, p < .05$, mayor respuesta entre los sujetos emparejados), de Día ($F_{(3, 108)} = 11.14, p < .01$, mayor respuesta durante el primer día) y Sesión ($F_{(1, 36)} = 27.49, p < .05$, mayor respuesta durante la segunda sesión). Asimismo, se observó una interacción entre Condición de aprendizaje y Día ($F_{(3, 108)} = 10.79, p < .01$), donde se aprecia el aumento en el número de respuestas operantes entre los animales del grupo emparejado a lo largo de los días ($F_{(3, 57)} = 19.56, p < .01$), así como una diferencia con respecto a sus controles en el DP16 ($F_{(1, 38)} = 9.46, p < .01$) y el DP17 ($F_{(1, 38)} = 19.75, p < .01$). Ninguna otra interacción resultó significativa.

En el caso de la prueba, el ANOVA mixto sólo reveló un efecto principal de Bloque ($F_{(4, 144)} = 2.49, p < .05$), donde se observa que los primeros dos bloques presentan mayores niveles de respuesta con respecto al resto. Ningún otro efecto ni interacción fue detectado.

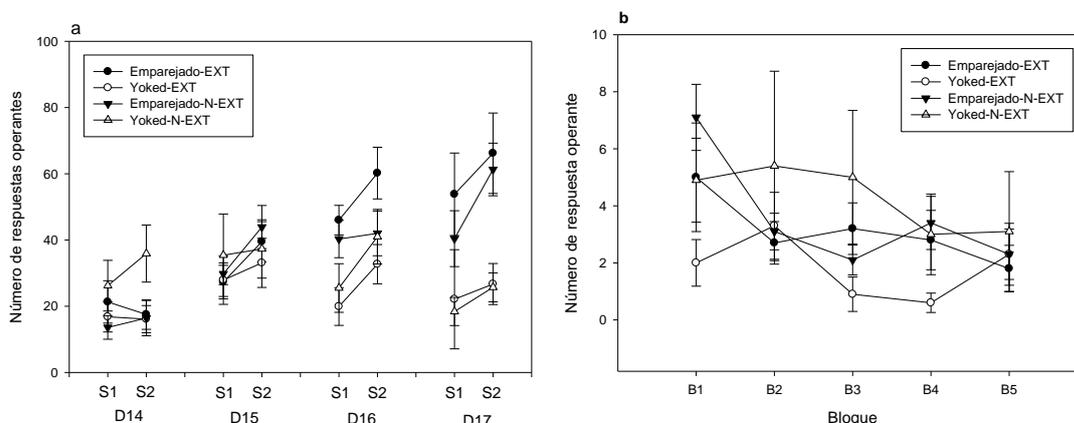


Figura 10. Número de respuestas operantes durante el condicionamiento (a) y la prueba (b) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y la Extinción al contexto (EXT y N-EXT). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM).

Discusión preliminar

Como se aprecia durante la fase de condicionamiento, los parámetros utilizados en este experimento fueron efectivos para producir una clara curva de aprendizaje, que se refleja en un marcado incremento de la respuesta operante entre los animales del grupo emparejado, particularmente en el último día de condicionamiento. Resulta interesante resaltar que las diferencias significativas

entre animales del grupo emparejado y sus controles se observan a partir del tercer día del entrenamiento (DP16). Esta tendencia conduce a reconsiderar la necesidad de emplear los dos primeros días de condicionamiento (DP14 y DP15) para la adquisición de la respuesta operante. La posibilidad de excluir estos días del condicionamiento resulta importante si se tiene en cuenta que el procedimiento involucra manipulaciones diarias que podrían facilitar ciertos niveles de estrés en los animales tales como: separación materna prolongada, procedimiento de canulación, estimulación, y pesado de la cría. Reducir los niveles de manipulación experimental lograría disminuir la exposición a estresores innecesarios, lo que podría favorecer la adquisición de un condicionamiento operante apetitivo. Por este motivo, en experimentos posteriores el condicionamiento inició el DP16.

Respecto a la prueba, no fue posible observar diferencias entre los sujetos emparejados y los controles que dieran cuenta de la evocación del aprendizaje en ausencia del reforzador. Una explicación posible es que los sujetos yoked también podrían haber aprendido una relación entre su respuesta y el reforzador, aunque en un esquema de condicionamiento diferente (por ejemplo bajo un esquema de reforzamiento de razón variable). Esto podría obstaculizar la posibilidad de obtener diferencias claras con respecto a la condición de aprendizaje de estos sujetos. Una posible explicación de la elevada respuesta en los controles sería que ciertas claves discriminativas, como la arandela de metal que rodea el orificio de la caja de condicionamiento, resulte demasiado saliente para los sujetos de ambos grupos, generando una alta probabilidad de exploración de la misma. Esto aumentaría la posibilidad de que la conducta de hociqueo de los sujetos yoked fuese reforzada, dado que podría coincidir con la activación del sensor realizada por el sujeto experimental. Por esta razón, en experimentos posteriores se decidió modificar la caja de condicionamiento, sumando otro orificio al extremo contrario de la caja, cuya exploración no sería reforzada. Al aumentar las claves presentes en la caja de condicionamiento, el tiempo destinado a la exploración de las mismas se distribuye, y de este modo se reduce el tiempo que los sujetos yoked dedican a la exploración del orificio activo de la caja, disminuyendo la probabilidad que

aprendan la relación entre la respuesta frente a este orificio y el la liberación del reforzador, como consecuencia de la conducta efectiva del sujeto emparejado.

Por último, a pesar de que descriptivamente se aprecia que los animales emparejados del grupo no extinguido presentan los niveles de respuesta más altos, no fue posible observar la reducción de la respuesta operante luego de la exposición no reforzada al contexto. Debido a que no se conoce cuál es el tiempo de exposición al contexto óptimo para producir una reducción en la respuesta, en el siguiente experimento se decidió estudiar el mismo fenómeno pero empleando el cambio de contexto en lugar de una exposición no reforzada al mismo. Esta estrategia fue seleccionada por tratarse de un abordaje sencillo que garantizaría la exposición a un contexto no asociado con el reforzador.

EXPERIMENTO 4A: CAMBIO DE CONTEXTO DURANTE LA PRUEBA

Este experimento fue realizado con el objetivo de evaluar el efecto de cambio de contexto durante la prueba. El estudio fue conducido basado en la hipótesis de que durante el condicionamiento los animales aprenden a reconocer las claves del contexto y durante la prueba éstas son fundamentales para recuperar la respuesta en ausencia del reforzador. El cambio de las claves contextuales durante la prueba debería reducir el número de respuestas operantes entre los animales del grupo emparejado (Grupo AB, siendo la primera letra una referencia del contexto de condicionamiento y la segunda del contexto de prueba), quienes deberían expresar un número menor de respuestas en comparación con el nivel de respuesta ejecutada por los animales del grupo emparejado expuestos al mismo contexto de entrenamiento (Grupo AA). Por otro lado, también se indagó si el protocolo de condicionamiento resultó efectivo para instalar la respuesta operante, comparando el número de respuestas entre los sujetos de la condición emparejada y los de la condición control (yoked). Se espera que el grupo Emparejado-AA responda significativamente más que los animales del grupo Yoked-AA durante la fase de extinción. A su vez, no se esperan diferencias entre los animales del grupo Emparejado-AB y Yoked-AB.

Materiales y método

Sujetos. Se emplearon un total de 28 ratas Wistar (DP16 al iniciar el experimento), provenientes de 7 camadas. Se constituyeron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Contexto al momento de la prueba (AA y AB). Se utilizó un $n= 7$ animales por grupo, 3 machos y 4 hembras.

Aparatos y sustancias. Se emplearon las mismas cajas de condicionamiento descritas previamente, aunque en esta oportunidad las mismas contaron con dos orificios. El sensor se ubicó en el orificio izquierdo de las cajas. La bomba fue calibrada para infundir 6 μ l de leche chocolatada durante 2 segundos, directamente en la cavidad oral del animal. Se emplearon dos contextos alternativos. El contexto 1 consistió en una caja de paredes negras que fue aromatizada con esencia de almendra que se colocó en una pieza de algodón en la tapa de la caja (0.5% v/v, Esencias del Boticario, Córdoba). El contexto 2 consistió en una caja de paredes blancas con esencia de naranja (0.3% v/v, Esencias del Boticario, Córdoba). Ambas soluciones fueron preparadas diariamente en agua destilada. El uso de los diferentes contextos siempre estuvo contrabalanceado, por lo que para la mitad de los animales el contexto 1 fue el contexto de condicionamiento, mientras que el resto fue condicionado en el contexto 2.

Procedimiento.

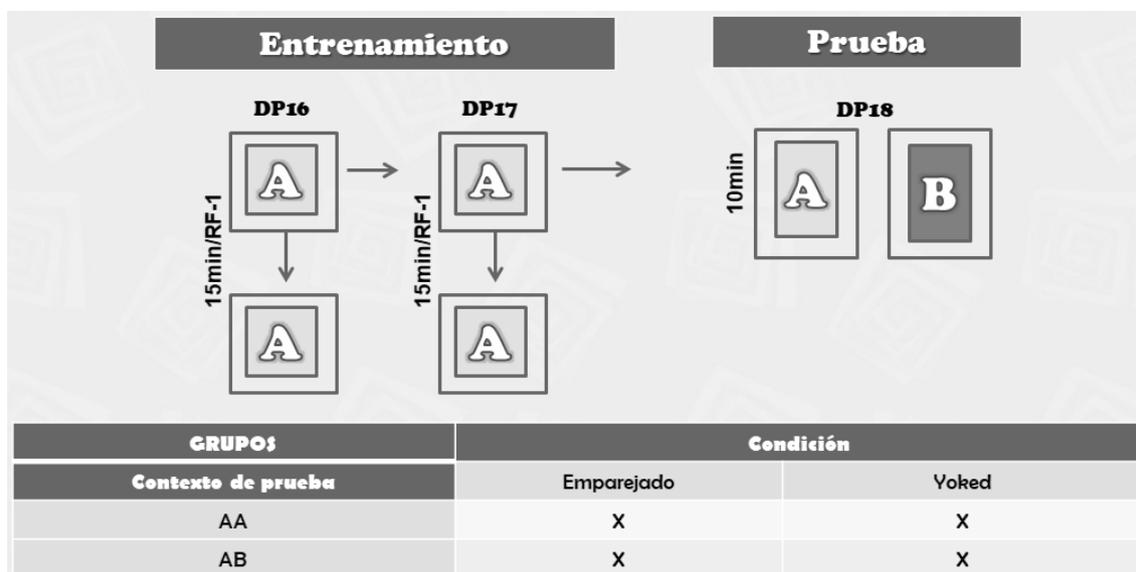
Condicionamiento. El entrenamiento operante fue realizado durante los DP16 y DP17. Se llevaron a cabo dos sesiones diarias de condicionamiento, cada una precedida por dos horas de separación materna. Cada sesión de entrenamiento tuvo la duración de 15 minutos. Se empleó un esquema de reforzamiento de una razón fija (RF-1). El contexto de condicionamiento fue denominado con la letra A.

Prueba. Se llevó a cabo el DP18. El procedimiento fue idéntico al condicionamiento, aunque en esta oportunidad el reforzador no fue administrado, y tuvo una duración de 10 minutos. Los animales fueron evaluados en dos contextos alternativos. La mitad de ellos fue expuesta al mismo contexto usado durante el entrenamiento (Grupo AA), y el resto de los animales fueron evaluados en un

ambiente alternativo (Grupo AB). El diseño experimental puede observarse en el Esquema 4.

Esquema 4

Diseño experimental del Experimento 4A: Cambio de contexto durante la prueba



El presente experimento fue diseñado para evaluar el efecto del cambio de contexto entre el entrenamiento y la prueba sobre la respuesta operante, empleando un intervalo de retención de 24hs (Objetivo específico 2). Se conformaron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje y el Contexto de prueba. Las letras indican los contextos durante las diferentes fases experimentales.

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos separados para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas durante las fases de condicionamiento y prueba. Se empleó un diseño factorial 2X2 en el cual uno de los factores fue la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y el otro Contexto de prueba (AA y AB), ambos factores siempre tomados como variable inter-grupo para todos los análisis. Para el análisis de peso corporal el factor Día (DP16 al 18) fue tomado como variable intra-grupo. Para el consumo del reforzador y el número de respuestas operantes durante el condicionamiento, los Días de condicionamiento (DP16 y 17) y la Sesión (Sesión 1 y 2) fueron tomados como variable intra-grupo. Para el análisis del número de respuestas operantes durante la fase de prueba también se empleó un ANOVA mixto, y la variable Bloque (Bloque 1 al Bloque 5), que da cuenta de bloques de 2 minutos, fue tomada como variable intra-grupo.

Resultados

Peso corporal y consumo del reforzador (PCG/BWG). El ANOVA mixto reveló un incremento significativo del peso a lo largo de los días ($F_{(2, 48)} = 50.94, p < .01$), independientemente de los grupos. Se observó que el consumo del reforzador fue mayor durante la segunda sesión ($F_{(1, 24)} = 7.73, p < .05$). El ANOVA también mostró una interacción significativa entre Día y Sesión ($F_{(1, 24)} = 6.86, p < .05$), siendo mayor el consumo registrado durante la segunda sesión del segundo día. Inesperadamente, se observó también una interacción entre Día, Sesión y Contexto de prueba ($F_{(1, 24)} = 9.32, p < .01$). El ANOVA para el grupo AB no arrojó ningún efecto principal ni interacción significativa. Para el caso del grupo AA, el ANOVA mostró que el consumo fue mayor durante la segunda sesión de condicionamiento ($F_{(1, 12)} = 13.63, p < .01$) y reveló una interacción significativa entre Día y Sesión ($F_{(1, 12)} = 17.97, p < .01$), donde se observó que el consumo fue mayor durante la segunda sesión del segundo día para los animales de este grupo. Los valores medios de consumo pueden apreciarse en la Tabla 5.

Tabla 5
Consumo durante las diferentes sesiones de condicionamiento para el Grupo AB y el AA

	Grupo AB				Grupo AA			
	Sesión 1		Sesión 2		Sesión 1		Sesión 2	
	Media (gr)	EEM±						
DP16	0.09	0.02	0.14	0.02	0.12	0.02	0.09	0.02
DP17	0.13	0.03	0.16	0.04	0.08	0.03	0.24	0.04

Valores medios de consumo del reforzador y sus desviaciones a lo largo de las sesiones y días de condicionamiento para los grupos AB y AA. EEM hace referencia al error estándar de la media.

Número de respuestas operantes. En la Figura 11 se aprecia el número total de respuestas operantes para los diferentes grupos en función de la Condición de aprendizaje y el Contexto de prueba. La fase de condicionamiento se presenta en la Figura 11a, donde se reflejan las cuatro sesiones de condicionamiento. La Figura 11b muestra la fase de prueba, contemplando bloques de 2 minutos. Durante la fase de condicionamiento se pudo apreciar un mayor número de respuestas entre los animales del grupo emparejado ($F_{(1, 24)} = 12.58, p < .01$), así como una interacción entre Día y Condición de aprendizaje ($F_{(1, 24)} = 4.95, p < .05$), donde se observa que los animales del grupo emparejado expresaron un mayor número de respuestas respecto a los del grupo control durante el segundo día, y que este nivel

de respuesta fue incluso mayor que el del primer día de condicionamiento. También se observó una interacción significativa entre Sesión y Condición de aprendizaje ($F_{(1, 24)} = 6.37, p < .05$), siendo el nivel de respuesta de los animales del grupo emparejado mayor que el de los controles durante la Sesión 2, y más que la sesión anterior. Finalmente, se observó que la interacción entre Condición de aprendizaje, Contexto de prueba, Día y Sesión de condicionamiento resultó significativa ($F_{(1, 24)} = 8.65, p < .05$). El ANOVA secuencial para el Grupo AB no arrojó ningún efecto principal ni interacción significativa. El ANOVA para el Grupo AA mostró un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 12)} = 20.96, p < .01$, sujetos emparejados respondieron más que los controles), una interacción significativa entre Sesión y Condición de aprendizaje ($F_{(1, 12)} = 7.28, p < .05$), donde se observó que los animales del grupo emparejado respondieron significativamente más que los controles durante la segunda sesión, y que esa respuesta se incrementó en relación con la primera sesión. Finalmente, se observó una interacción significativa entre Condición de aprendizaje, Día de condicionamiento y Sesión ($F_{(1, 12)} = 7.85, p < .05$). El análisis post-hoc reveló que el nivel de respuesta de los animales emparejados durante la segunda sesión del segundo día fue significativamente mayor a sus controles y al del resto de las sesiones.

Con respecto a la fase de prueba, el ANOVA reveló una interacción significativa entre Condición de aprendizaje y Bloque ($F_{(4, 96)} = 2.60, p < .05$). La prueba post hoc reveló que durante el segundo bloque, los animales del grupo emparejado respondieron significativamente más que los controles. Asimismo, estos valores fueron significativamente mayores a los de los últimos dos bloques. Ningún otro efecto o interacción resultó significativo.

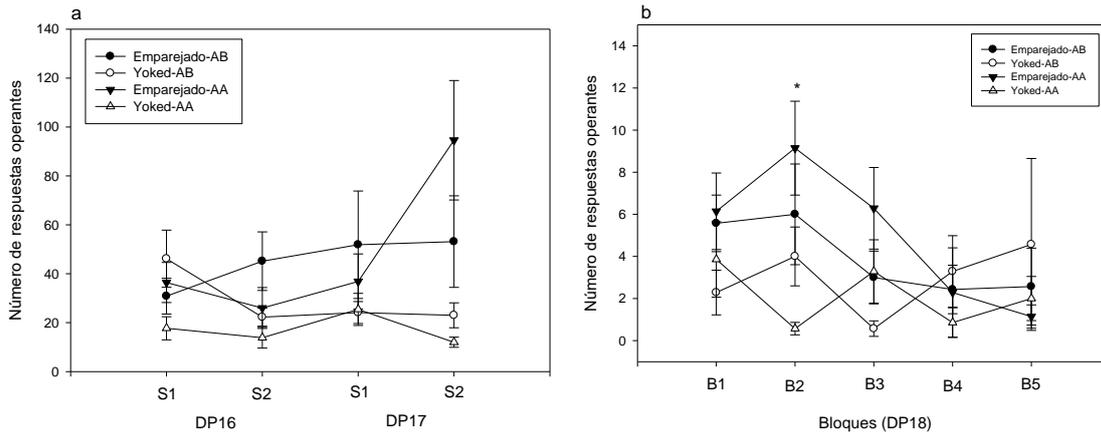


Figura 11. Número de respuestas operantes en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y el Contexto de prueba (AA y AB) durante el condicionamiento, considerando las cuatro sesiones (a) y la fase de prueba, contemplando cinco bloques de 2 minutos (b). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM). (*) Diferencia significativa entre grupo emparejado y control.

Discusión preliminar

Si bien no fue posible observar el efecto de cambio de contexto, este experimento permitió una aproximación valiosa al fenómeno en estudio. En primer lugar, el análisis realizado mostró que durante las sesiones de condicionamiento, los sujetos del grupo emparejado respondieron progresivamente más a lo largo de las sesiones, y significativamente más que los animales del grupo yoked. Inesperadamente, este efecto se observó principalmente entre los animales del grupo emparejado-AA. Esto se debió a un error aleatorio, dado que este grupo no difirió en esta instancia de las condiciones experimentales atravesadas por el grupo emparejado-AB. Respecto a la fase de prueba, el análisis estadístico sólo mostró una interacción entre condición de aprendizaje y bloque, siendo el segundo bloque donde se observó un incremento de la respuesta entre los animales del grupo emparejado. Como se indicó, no se observó el efecto de cambio de contexto entre la fase de entrenamiento y la fase de prueba.

Evaluando casos individuales se detectó que algunos de los animales habían consumido altos niveles del reforzador durante las últimas sesiones del entrenamiento (cerca de 1ml en 15 minutos), y que el número de respuesta de estos animales durante la fase de prueba fue baja. Se ha demostrado que las ratas infantiles no muestran la actividad de ciertas enzimas en el intestino capaces de

metabolizar muchos carbohidratos durante las primeras dos semanas postnatales (Henning, 1987; Henning & Guerin, 1981; Kojima et al., 1998). Además, datos no publicados de otro laboratorio indican que las ratas infantiles adquieren aversión después del consumo de grandes cantidades de sacarosa (comunicación personal del Dr. Truxell, Universidad de Binghamton, Estados Unidos). Esto condujo a plantear la hipótesis de que altos niveles de consumo de leche chocolatada podrían estar produciendo malestar gástrico en los animales, volviendo al aprendizaje una experiencia relativamente aversiva. Siguiendo esta hipótesis se decidió ajustar el protocolo experimental y la cantidad de pulsos disponibles del reforzador fue limitada en el experimento siguiente, con el fin de controlar el aspecto aversivo que el consumo ilimitado del reforzador podría producir.

EXPERIMENTO 4B: CAMBIO DE CONTEXTO EMPLEANDO UN CRITERIO DE AJUSTE AL CONSUMO DEL REFORZADOR

Como se señaló anteriormente, es posible que debido a un esquema ilimitado de autoadministración del reforzador (leche chocolatada), los animales hayan ingerido altos niveles del mismo. Esto puede haber generado un posible malestar gástrico, haciendo que el aprendizaje sea relativamente aversivo, lo que podría explicar la reducción de la respuesta operante durante los primeros minutos de la fase de prueba. El siguiente experimento fue conducido con el fin de evitar esta posibilidad. En esta oportunidad, el condicionamiento estuvo determinado por un número limitado de pulsos disponibles por sesión de entrenamiento. En el DP16 las sesiones finalizaron al completar un total de 20 pulsos. En el caso del DP17, el total fue de 30 pulsos. Empleando el presente esquema, los animales fueron entrenados para aprender la contingencia positiva entre su comportamiento y el reforzador, pero los altos niveles de consumo y el posible malestar gástrico fue prevenido. El efecto de cambio de contexto nuevamente fue evaluado, aunque bajo estos nuevos parámetros. Se espera que en esta oportunidad el efecto de cambio de contexto durante la fase de prueba pueda apreciarse.

Materiales y métodos

Sujetos. En este experimento se usaron 32 ratas infantas Wistar (DP16 al iniciar el experimento) pertenecientes a 8 camadas. Se constituyeron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Contexto de prueba (AA y AB). Se utilizó un $n= 8$ animales por grupo, 4 machos y 4 hembras.

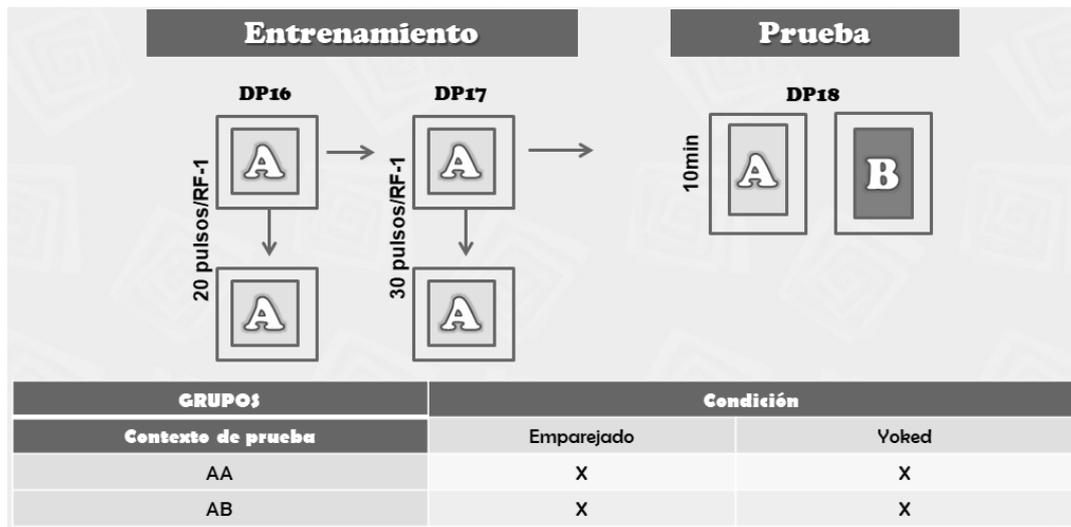
Procedimiento. Los métodos y aparatos fueron similares a los descritos en el experimento anterior.

Condicionamiento. En esta oportunidad, una vez alcanzado el total de pulsos especificados por sesión (20 pulsos para el DP16 y 30 pulsos para el DP17), la sesión de entrenamiento finalizó. Como en el experimento previo, se empleó un esquema de reforzamiento de RF-1. La duración del entrenamiento fue variable, dependiendo del tiempo que a las crías le tomó alcanzar el criterio del total de pulsos. En el caso de no cumplir con éste, las sesiones finalizaron al alcanzar los 15 minutos de duración.

Prueba. Nuevamente, durante la fase de prueba (DP18) los animales fueron evaluados en dos contextos alternativos (la mitad de ellos en el mismo contexto de entrenamiento –Grupo AA-, y el resto de las crías fueron evaluadas en un contexto alternativo –Grupo AB-). Esta fase tuvo una duración de 10 minutos. El diseño experimental puede apreciarse en el Esquema 5.

Esquema 5

Diseño experimental del Experimento 4B: Cambio de contexto empleando un criterio de ajuste al consumo del reforzador



El presente experimento fue diseñado para evaluar el efecto del cambio de contexto entre el entrenamiento y la prueba sobre la respuesta operante, empleando un intervalo de retención de 24hs (Objetivo específico 2). Se conformaron dos grupos en función de la Condición de aprendizaje y el Contexto de prueba. Las letras dan cuenta del contexto empleado durante las diferentes fases experimentales para los diferentes grupos.

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos separados para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas durante las fases de condicionamiento y prueba. Se empleó un diseño factorial 2X2 en el cual uno de los factores fue la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y el otro Contexto de prueba (AA y AB), considerados siempre como variable inter-grupo para todos los análisis. Para el análisis de peso corporal el factor Día (DP16 al 18) fue tomado como variable intra-grupo. Debido a que los criterios de pulsos máximos difirieron entre los días de condicionamiento, estos ya no son comparables entre sí, por lo que se realizaron análisis separados para cada día de condicionamiento. Por lo tanto, para el consumo del reforzador y el número de respuestas operantes durante el condicionamiento, se realizaron ANOVAs mixtos separados para cada Día de condicionamiento, y la Sesión (Sesión 1 y 2) fue tomada como variable intra-grupo. Para el análisis del número de respuestas operantes durante la fase de prueba también se empleó un ANOVA mixto, donde Bloque de 2 minutos (Bloque 1 al Bloque 5) fue tomado como variable intra-grupo.

Resultados

Peso corporal y consumo del reforzador (PCG/BWG). Respecto al peso corporal, el ANOVA reveló un incremento significativo del peso a lo largo de los días de condicionamiento, independientemente de los grupos ($F_{(2, 56)} = 34.63, p < .01$). Respecto al consumo del reforzador, no se observaron efectos principales ni interacciones en ninguno de los días. Los valores medios a lo largo de las sesiones pueden observarse en la Tabla 6.

Tabla 6
Consumo durante las diferentes sesiones de condicionamiento

	Sesión 1		Sesión 2	
	Media (gr)	EEM±	Media (gr)	EEM±
DP16	0.06	0.008	0.08	0.006
DP17	0.14	0.007	0.16	0.004

Nivel medio de consumo del reforzador y su desviación en las sesiones de ambos días de condicionamiento. EEM hace referencia al error estándar de la media.

Número de respuestas operantes. En la Figura 12 es posible apreciar el número de respuestas operantes durante las diferentes sesiones del condicionamiento (Figura 12a) y durante la fase de prueba (Figura 12b) para los diferentes grupos en función de la Condición de aprendizaje y el Contexto de prueba. El ANOVA mixto para el DP16 no arrojó ningún efecto principal ni interacción significativa. Sólo el factor Condición de aprendizaje estuvo cerca de alcanzar un efecto principal significativo ($F_{(1, 28)} = 4.05, p = 0.054$). En el DP17 se observó que los animales del grupo emparejado respondieron significativamente más que sus controles ($F_{(1, 28)} = 175.78, p < .01$). También se observó una interacción significativa entre Condición de aprendizaje y Sesión ($F_{(1, 28)} = 5.44, p < .05$), donde se observó que los animales emparejados respondieron significativamente más que los controles en ambas sesiones, y que incrementaron el nivel de respuesta entre sesiones. Ningún otro efecto o interacción fue evidente.

El análisis de la fase de prueba sólo arrojó un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 28)} = 9.40, p < 0.05$), siendo los sujetos del grupo emparejado quienes respondieron significativamente más que los animales del grupo yoked. Ningún otro efecto principal o interacción resultó significativo.

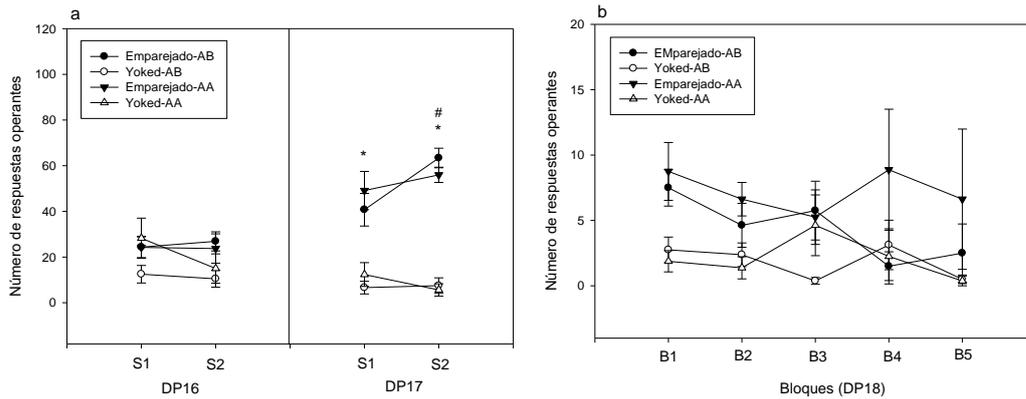


Figura 12. Número de respuestas operantes durante las diferentes sesiones del condicionamiento (a) y durante la fase de prueba (b) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y el Contexto de prueba (AA y AB). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM). (*) Diferencia significativa entre grupo emparejado y control. (#) Diferencia significativa entre sesiones.

Discusión preliminar

Los cambios procedimentales empleados en el presente experimento fueron efectivos a los fines de volver más claro el efecto de condicionamiento durante la fase de adquisición de la respuesta operante, así como durante la fase de prueba. De acuerdo con el análisis estadístico, las crías del grupo emparejado respondieron más que los yoked durante la fase de prueba. Sin embargo, se trata de un efecto sutil y la respuesta operante disminuye rápidamente. En el segundo bloque, el número de respuestas de las crías del grupo emparejado es similar al desplegado por los animales del grupo yoked. Los cambios en las condiciones contextuales no fueron efectivos en términos de modular la respuesta operante durante la fase de prueba.

Con el fin de retrasar la extinción, el próximo experimento evaluó un esquema de reforzamiento de razón fija 3 (RF-3) sobre el aprendizaje. Este esquema implica que los sujetos tienen que realizar más respuestas para recibir el reforzador. Está ampliamente documentado que este tipo de esquemas de reforzamiento producen una extinción más lenta (Domjan, 2010). Un retraso en la extinción permitiría detectar la diferencia entre los animales en función del cambio de contexto durante la prueba. Se espera que los animales del grupo emparejado-AA reflejen una extinción más lenta durante la prueba que el grupo emparejado-AB.

EXPERIMENTO 4C: CAMBIO DE CONTEXTO DURANTE LA EXTINCIÓN Y RENOVACIÓN DE LA RESPUESTA EXTINGUIDA

El presente experimento fue diseñado con el fin de evaluar el efecto de cambio de contexto empleando un esquema de reforzamiento de razón fija 3 (RF-3) en la segunda sesión de condicionamiento. Se ha planteado la hipótesis de que una extinción más lenta podría facilitar la observación del efecto de cambio de contexto. Por lo tanto, se espera que durante la fase de prueba (a partir de ahora fase de extinción), los animales expuestos a un contexto diferente al del entrenamiento respondan menos que los animales expuestos al mismo contexto. Además, en este experimento, el efecto de renovación también fue evaluado. En este caso, se esperaba que los animales expuestos a un contexto diferente durante la sesión de extinción recuperaran la respuesta extinguida durante la sesión de renovación, mientras que las crías expuestas a un mismo contexto durante el entrenamiento y la extinción, mantuvieran niveles bajos de respuesta al momento de la renovación.

Materiales y métodos

Sujetos. Se emplearon un total de 48 ratas infantiles Wistar (DP16 al comienzo del experimento), pertenecientes a 12 camadas. Se constituyeron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Contexto de extinción (AAA y ABA). Se utilizó un $n= 12$ por grupo, 6 machos y 6 hembras.

Procedimientos.

Condicionamiento. Como se describió previamente, el entrenamiento operante fue llevado a cabo durante los días DP16 y DP17, con dos sesiones diarias, cada una precedida por 2 horas de separación materna. En esta oportunidad, un esquema de reforzamiento de RF-1 fue implementado el DP16, y un esquema de RF-3 el DP17, por lo que los animales debían activar el sensor 3 veces consecutivas en un período de 2 segundos para recibir un pulso de reforzador. El criterio establecido previamente respecto a la cantidad máxima de pulsos por sesión se mantuvo. Un total de 20 pulsos fue el límite para las sesiones de entrenamiento del DP16 y de

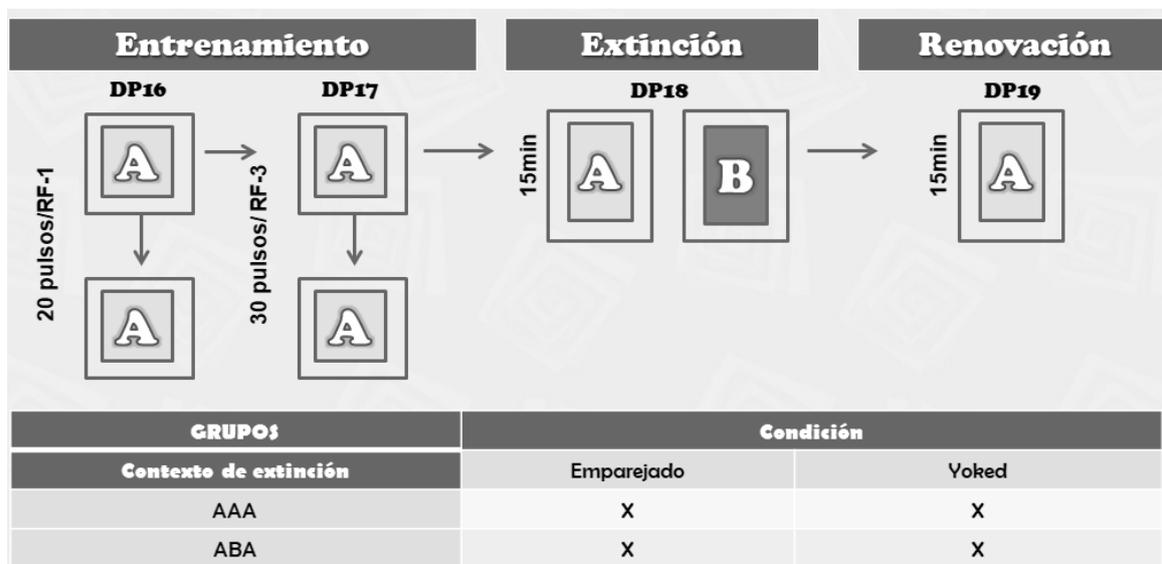
30 pulsos para el DP17. La duración de la sesión del entrenamiento fue variable, pero no excedió los 15 minutos.

Extinción. Al DP18, los animales fueron evaluados en una sesión de extinción incluyendo dos contextos alternativos (la mitad de ellos en el mismo contexto usado durante el entrenamiento, y el resto expuesto a un contexto diferente). La extinción tuvo una duración de 15 minutos y a diferencia de las sesiones de condicionamiento, el reforzador no fue entregado.

Renovación. Se llevó a cabo el DP19. En esta oportunidad los animales fueron expuestos nuevamente a una sesión similar a la extinción, cuya duración fue de 15 minutos y el reforzador no fue entregado. La característica principal fue que todos los animales fueron expuestos al contexto de entrenamiento. Por lo tanto, fue posible distinguir dos grupos en función del contexto en el cual atravesaron la fase de extinción, a saber Grupo AAA y Grupo ABA, donde las letras dan cuenta del contexto de condicionamiento, extinción y prueba de renovación, respectivamente. El diseño experimental puede apreciarse en el Esquema 6.

Esquema 6

Diseño experimental del Experimento 4C: Cambio de contexto durante la extinción y renovación de la respuesta extinguida



El presente experimento fue diseñado para evaluar el efecto del cambio de contexto entre el entrenamiento y la prueba sobre la respuesta operante, empleando un intervalo de retención de 24hs (Objetivo específico 2), así como para evaluar el efecto de renovación de la respuesta operante luego de la extinción (Objetivo específico 3). Se conformaron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje y el Contexto de extinción. Las letras indican el contexto empleado durante las diferentes fases experimentales para los grupos.

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos separados para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas durante las fases de condicionamiento, extinción y prueba de renovación. Se empleó un diseño factorial 2X2, donde uno de los factores fue la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y el otro fue Contexto de extinción (AAA y ABA), ambos factores siempre fueron considerados como variable inter-grupo para todos los análisis. Para el análisis de peso corporal el factor Día (DP16 al 18) fue tomado como variable intra-grupo. Para el consumo del reforzador y el número de respuestas operantes durante el condicionamiento, se realizaron ANOVAs mixtos separados por cada Día de condicionamiento, y la Sesión (Sesión 1 y 2) se tomó como variable intra-grupo. Para el análisis del número de respuestas operantes durante las fases de extinción y prueba también se emplearon ANOVAs mixtos separados, donde se consideró el factor Bloque (Bloque 1 al Bloque 5) como variable intra-grupo. En esta oportunidad los bloques contemplaron intervalos de 3 minutos de duración.

Resultados

Peso corporal y consumo del reforzador (PCG/BWG). El peso corporal incrementó progresivamente a lo largo de los días ($F_{(5, 220)} = 240.52, p < .01$), y esta variable no difirió entre los grupos. En el DP16, el consumo fue mayor durante la segunda sesión ($F_{(1, 44)} = 5.57, p < .05$). En el DP17, los niveles de consumo fueron similares a lo largo de las sesiones entre los grupos emparejados. Los valores medios de consumo pueden apreciarse en la Tabla 7.

Tabla 7.
Consumo durante las diferentes sesiones de condicionamiento

	Sesión 1		Sesión 2	
	Media (gr)	EEM±	Media (gr)	EEM±
DP16	0.06	0.004	0.08	0.004
DP17	0.07	0.007	0.08	0.007

Nivel medio de consumo del reforzador y su desviación en las sesiones de ambos días de condicionamiento. EEM hace referencia al error estándar de la media.

Número de respuestas operantes. La Figura 13 muestra el número de respuestas operantes durante el condicionamiento (Figura 13a), extinción (Figura 13b) y prueba de renovación (Figura 13c). Durante el condicionamiento, el número total

de respuestas operantes del grupo emparejado fue significativamente mayor que lo exhibido por el grupo control. Este efecto alcanzó significación estadística en ambos días de condicionamiento [PD16: ($F_{(1,44)} = 14.83, p < .05$); PD17: ($F_{(1,44)} = 56.47, p < .05$)].

El ANOVA para los valores durante la extinción reveló un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1,44)} = 7.5, p < .01$), indicando que el número de respuestas desplegado por los grupos de los sujetos emparejados durante toda la fase de extinción fue significativamente mayor que la de los grupos de sujetos control. Interesantemente, la cantidad de respuestas realizadas por los animales emparejados de los grupos ABA y AAA durante toda la fase de extinción fue estadísticamente similar (condición ABA: Media=19.75, EEM± 3.91, y condición AAA: Media= 24.67, EEM± 3.91). Sin embargo, la distribución de estas respuestas a lo largo de la extinción fue algo diferente entre estos grupos, como lo evidencia la triple interacción significativa entre Condición de aprendizaje, Contexto de extinción y Bloque ($F_{(4,176)} = 2.89, p < .05$). Se realizaron dos ANOVAs, una para cada condición de Contexto (AAA y ABA), en las cuales la Condición de aprendizaje fue el factor inter-grupo y Bloque fue la variable intra-grupo. El ANOVA para los valores de la condición AAA mostró una interacción significativa entre Condición de aprendizaje y Bloque ($F_{(4,88)} = 3.04, p < .05$). La prueba post hoc reveló que el número de respuestas operantes realizados por los animales del grupo emparejado durante el primer bloque fue mayor que el de sus controles. Asimismo, las respuestas operantes de los animales emparejados en el Bloque 1 fueron mayores al resto de los bloques. Este patrón de respuesta, el cual indica que la extinción de la respuesta operante ha ocurrido, no se observó entre los animales del grupo control, que tuvieron un nivel de respuesta similar a lo largo de la fase de extinción. En la condición ABA, el ANOVA reveló una interacción significativa entre Condición de aprendizaje y Bloque ($F_{(4,88)} = 3.14, p < .05$). La prueba post hoc mostró que los animales emparejados respondieron más que los controles en el Bloque 2. Además, las respuestas operantes del grupo emparejado en este bloque fueron significativamente mayores a la de los Bloques 3 y 5. Estos resultados también indican que la extinción de la respuesta operante en la condición ABA tuvo lugar, pero en este caso, el número máximo de respuestas fue alcanzado en el

Bloque 2. El número de respuestas en el Bloque 1 para el grupo AAA no difirió significativamente de aquellos observados en el Bloque 2 para el grupo ABA ($F_{(1, 22)} = 1.12, p = .30$).

Se llevó a cabo un ANOVA similar para explorar el posible efecto de renovación el DP19. El ANOVA reveló una interacción significativa entre Condición de aprendizaje, Contexto de extinción y Bloque ($F_{(4, 176)} = 2.80, p < .05$). Se realizó un ANOVA secuencial para el grupo ABA, que indicó una interacción significativa entre la Condición de aprendizaje y Bloque ($F_{(4, 88)} = 2.6, p < .05$). En la prueba post hoc se observó que los sujetos del grupo emparejado respondieron significativamente más que sus controles en el Bloque 1. Asimismo, el número de respuestas exhibido por las crías del grupo emparejado durante el primer bloque de renovación fue significativamente mayor que el desplegado en el resto de los bloques. No se observó ninguna diferencia a lo largo de los bloques entre los animales del grupo control. El ANOVA realizado para el grupo AAA no mostró diferencias significativas entre los grupos o interacciones. Estos resultados dan cuenta de la recuperación de la respuesta extinguida en la condición ABA, pero no en la condición AAA.

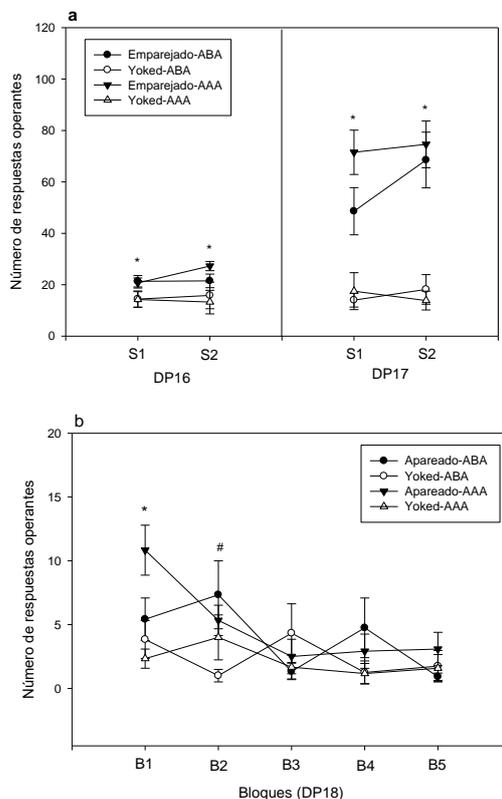


Figura 13. Número de respuestas operantes durante el condicionamiento (a), la extinción (b) y prueba de renovación (c) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y el Contexto de extinción (AAA y ABA). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM). (*) Diferencia significativa entre grupos Emparejado y Yoked (a), diferencia entre grupo Emparejado-AAA y el resto de los grupos (b), diferencia entre grupo Emparejado-ABA y el resto de los grupos. (#) Diferencia entre grupo Emparejado-ABA y Yoked-ABA.

Discusión preliminar

Durante el condicionamiento el número de respuestas operantes de los animales emparejados fue significativamente mayor que la de los controles en la última sesión de entrenamiento. Asimismo, los parámetros experimentales empleados en este experimento fueron efectivos para promover una clara curva de extinción de la respuesta operante. La curva de extinción fue clara tanto entre los animales emparejados del grupo AAA como del grupo ABA, aunque estos grupos alcanzaron el máximo número de respuestas en diferentes bloques, lo que da cuenta de que el cambio de contexto tuvo un efecto sobre la respuesta operante. Finalmente, se observó un efecto de renovación ABA en la última fase experimental. Este último dato adquiere gran relevancia puesto que, por un lado refleja que en esta etapa del desarrollo la extinción no implica el borrado de la memoria original, pero además permite suponer que la extinción también es altamente dependiente de contexto en esta etapa del desarrollo. Estos resultados pueden tomarse como evidencia a favor de que los animales de estas edades son capaces de aprender del contexto tanto durante la fase de adquisición como de extinción de la respuesta operante.

EXPERIMENTO 5: EXPOSICIÓN NO REFORZADA AL CONTEXTO POSTERIOR AL ENTRENAMIENTO

A partir de los resultados obtenidos en el experimento descrito previamente, en el cual se observó que el cambio de contexto al momento de la prueba generaba un retraso en la expresión de la respuesta operante en comparación con los animales evaluados en el mismo contexto de entrenamiento, surge el interés por explorar nuevamente si la exposición no reforzada al contexto de entrenamiento, previo a la prueba, afecta la ejecución de la respuesta operante, ya sea retrasando su aparición, como en el caso anterior, o reduciendo el número de respuestas al momento de la prueba. En esta oportunidad, el protocolo de condicionamiento utilizado fue el que demostró generar un claro aprendizaje de la respuesta operante, tanto durante la fase de entrenamiento, donde se observa un incremento de la respuesta operante a lo largo de las sesiones, como durante la fase de extinción, donde puede apreciarse que los animales del grupo emparejado

responden significativamente más que los controles durante los primeros bloques de prueba.

Materiales y métodos

Sujetos. Se emplearon 36 ratas Wistar infantas (DP16 al iniciar el experimento), pertenecientes a 9 camadas. Se constituyeron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Contexto de exposición (AAA y ABA). Se utilizó un $n=9$ animales por grupo, 5 hembras y 4 machos para el grupo AAA y 4 hembras y 5 machos para el grupo ABA.

Aparatos y soluciones. Se emplearon dos contextos alternativos. El contexto 1 consistió en una caja de paredes negras, perfumado con esencia de almendra, que se colocó en una pieza de algodón en la tapa de la caja (1 ml de 0.5% v/v). El contexto 2 consistió en una caja de paredes blancas con esencia de naranja (1ml de 0.3% v/v). Los contextos fueron contrabalanceados.

Procedimiento. Al inicio de cada sesión experimental (entrenamiento y prueba), los animales fueron canulados y colocados de a par en la caja de alojamiento por un periodo de dos horas. Transcurrido ese tiempo, los animales fueron llevados a la sala de experimentación. Se les estimuló la vía anogential, se registró su peso, y fueron colocados en las cajas de condicionamiento para dar inicio a la sesión experimental. Inmediatamente después de cada sesión, los animales fueron pesados nuevamente.

Condicionamiento. Se llevó a cabo durante los DP16 y 17, con dos sesiones diarias, separadas por un intervalo de dos horas, en el cual los animales permanecieron de a pares en la caja de alojamiento. Durante el primer día se empleó un programa de reforzamiento de razón fija igual a 1 (RF-1), por lo que, cada vez que el animal realizaba la respuesta operante recibía un pulso del reforzador, y se empleó un criterio de 20 pulsos máximo. Una vez alcanzados los mismos, los animales fueron retirados de la caja de condicionamiento. El mismo criterio se utilizó el DP17, aunque la cantidad de pulsos máximos fue de 30, y el programa de reforzamiento empleado en esta oportunidad fue de RF-3. En caso de no alcanzar los pulsos máximos, el entrenamiento tuvo una duración máxima de 15 minutos. Finalizada la

segunda sesión diaria, a los animales se les retiraba la cánula oral y eran devueltos con su madre.

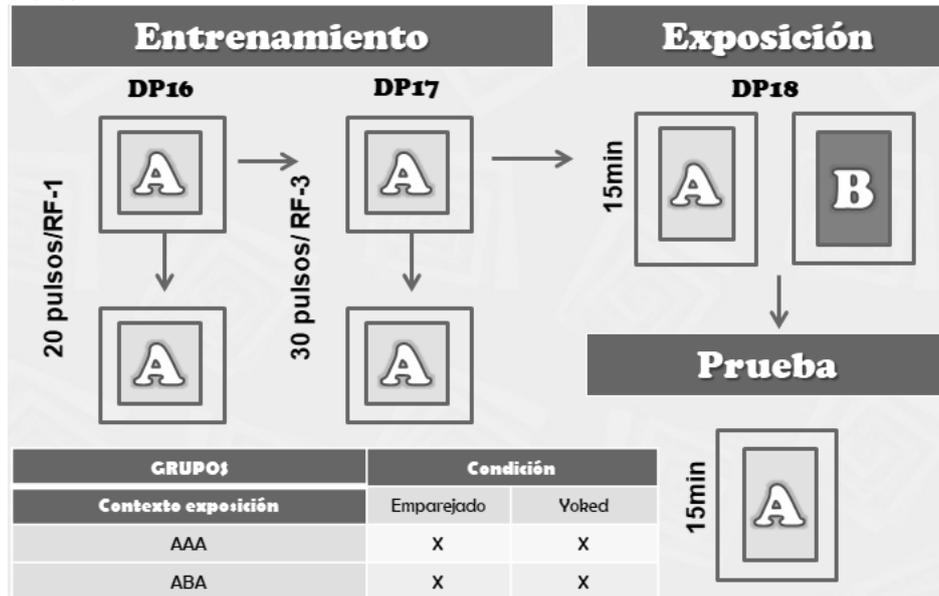
Exposición no reforzada al contexto. Al DP18, los animales fueron expuestos a las cajas de condicionamiento durante un período de 15 minutos. En esta oportunidad, los orificios y las arandelas fueron cubiertos con el fin de facilitar la exposición a las claves contextuales, pero impedir la extinción de la respuesta aprendida. Tampoco se administró el reforzador. La mitad de los animales fue expuesta al mismo contexto del entrenamiento y el resto a un contexto diferente. Finalizado el tiempo, los animales fueron retirados de las cajas de condicionamiento y colocados durante dos horas en la caja de alojamiento.

Prueba. Dos horas después de la exposición no reforzada al contexto, todos los animales fueron colocados nuevamente en las cajas de condicionamiento. En este caso, los orificios y arandelas fueron descubiertos, posibilitando efectuar la respuesta operante. La prueba tuvo una duración de 15 minutos, y el reforzador no fue administrado. El contexto empleado fue el mismo que se utilizó durante el entrenamiento. De esta forma se conformaron los grupos en función del contexto empleado durante la exposición no reforzada. El Grupo AAA atravesó las tres fases en el mismo contexto, y el Grupo ABA atravesó la fase de exposición no reforzada en un contexto alternativo.

El diseño experimental se aprecia en el Esquema 7.

Esquema 7

Diseño experimental del Experimento 5: Exposición no reforzada al contexto posterior al entrenamiento



El presente experimento fue diseñado para responder al objetivo de evaluar el efecto de la exposición no reforzada al contexto previa a la prueba sobre la respuesta operante (Objetivo específico 1). Se conformaron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje y el Contexto de exposición. Las letras indican el contexto empleado en las diferentes fases experimentales para los distintos grupos.

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos separados para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas durante las fases de condicionamiento y prueba. Se empleó un diseño factorial 2X2, donde la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Contexto de exposición (AAA y ABA) fueron incluidos como variables inter-grupo para todos los análisis. Para el análisis de peso corporal el factor Día (DP16 al 18) fue tomado como variable intra-grupo. Para el consumo del reforzador y el número de respuestas operantes durante el condicionamiento, se realizaron ANOVAs mixtos separados por cada Día de condicionamiento, y la Sesión (Sesión 1 y 2) fue considerada como variable intra-grupo. El número de respuestas operantes durante la prueba fue analizado con un ANOVA mixto, incluyendo el factor Bloque (Bloque 1 al Bloque 5) como variable intra-grupo.

Resultados

Peso corporal y consumo del reforzador (PCG/BWG). El análisis estadístico reveló un incremento significativo del peso a lo largo de los días ($F_{(2, 64)} = 80.65, p < .01$). Respecto al consumo del reforzador se observó un incremento durante la segunda

sesión para ambos días de condicionamiento (DP16: $F_{(1, 32)} = 9.56, p < .01$; DP17: $F_{(1, 32)} = 11.03, p < .01$). Los valores medios de consumo pueden apreciarse en la Tabla 8.

Tabla 8
Consumo durante las diferentes sesiones de condicionamiento

	Sesión 1		Sesión 2	
	Media (gr)	EEM±	Media (gr)	EEM±
DP16	0.04	0.006	0.06	0.007
DP17	0.07	0.007	0.10	0.010

Nivel medio de consumo del reforzador y su desviación en las sesiones de ambos días de condicionamiento. EEM hace referencia al error estándar de la media.

Número de respuestas operantes. La Figura 14 muestra el número de respuestas operantes en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Contexto de exposición (AAA y ABA) para las fases de condicionamiento (Figura 14a) y prueba (Figura 14b). Durante el primer día de condicionamiento sólo se observó un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 32)} = 7.05, p < 0.05$), siendo los animales emparejados los que respondieron más que los controles. La interacción entre Condición de aprendizaje y Sesión estuvo cercana a la significación ($F_{(1, 32)} = 3.60, p = 0.07$). En el DP17 se observó que los animales del grupo emparejado respondieron significativamente más que los controles ($F_{(1, 32)} = 42.9, p < 0.01$). El factor Sesión así como la interacción Sesión y Condición de aprendizaje estuvieron cerca de la significación ($F_{(1, 32)} = 3.85, p = 0.06$; $F_{(1, 32)} = 4.03, p = 0.053$, respectivamente).

Respecto a la prueba se observó que las respuestas de los animales emparejados fueron significativamente mayores a las del grupo control ($F_{(1, 32)} = 16.45, p < 0.01$). También se observó un efecto principal de Bloque ($F_{(4, 128)} = 13.44, p < 0.01$, primeros dos bloques difirieron entre ellos y del resto), y una interacción entre Condición de aprendizaje y Bloque ($F_{(4, 128)} = 6.51, p < 0.01$), siendo las respuestas de los animales emparejados significativamente mayores durante el primer bloque con respecto a los controles y al resto de los bloques. Sin embargo no se observó el efecto de exposición al contexto previo a la prueba.

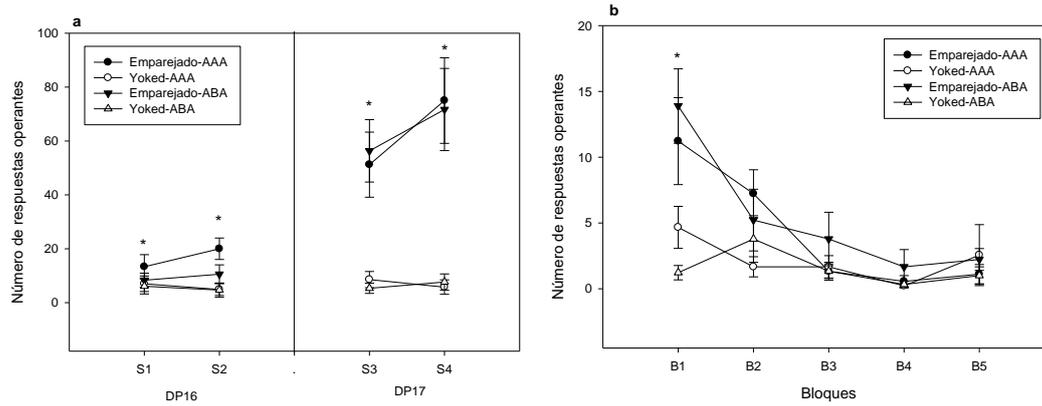


Figura 14. Número de respuestas operantes en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Contexto de exposición (AAA y ABA) para las fases de condicionamiento (a) y prueba (b). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM). (*) Diferencia significativa entre grupo Emparejado y Yoked.

Discusión preliminar

Como puede apreciarse en los datos del condicionamiento, bajo las condiciones experimentales empleadas es posible observar una clara curva de adquisición del aprendizaje, en la cual se ve un aumento en el número de respuestas entre los animales emparejados a lo largo de las sesiones, comparados con los controles. La recuperación de la respuesta aprendida se observa al momento de la prueba, donde los animales del grupo emparejado responden significativamente más que los controles durante el primer bloque. Esta diferencia se pierde a partir del segundo bloque, mostrando una típica curva de extinción. Sin embargo, la esperada reducción del número de respuestas entre los animales emparejados expuestos de manera no reforzada al contexto no pudo observarse. Teniendo en cuenta que en el Experimento 4C, durante la fase de extinción pudo apreciarse un cambio en el patrón de respuesta luego de un cambio de contexto, la ausencia de tal efecto en esta oportunidad podría ser debido a que el procedimiento de exposición al contexto empleado no fuera lo suficientemente efectivo para producir la extinción de las claves del contexto.

EXPERIMENTO 6: CAMBIO DE CONTEXTO Y RENOVACIÓN A LAS 48 HORAS

Anderson y Riccio (2005) señalan que el olvido en las ratas infantas inicia con los atributos específicos del contexto de entrenamiento, lo que conduce a un aumento de la generalización entre dos contextos diferentes, generando que la respuesta a un contexto diferente al momento de la prueba sea similar a la expresada en el mismo contexto de entrenamiento. Este aumento en la generalización entre contextos ocurre en un intervalo intermedio de retención. Si el intervalo es mayor lo que se observa es una reducción de la respuesta, independientemente del contexto de evaluación. Tal como se observa en los últimos experimentos reportados, el aprendizaje de la respuesta operante puede recuperarse tras un periodo de retención de 24 horas. Cuando se produce un cambio de contexto luego de este intervalo lo que se observa es un retraso en la expresión de la respuesta aprendida (Experimento 4C). El siguiente experimento tuvo como objetivo evaluar la retención del aprendizaje operante empleando un intervalo intermedio de retención (48 horas) y evaluar si el cambio de contexto al momento de la extinción reducía el número de respuesta, como se observa a las 24 horas (Experimento 4C), o si se produce un aumento en la generalización, disminuyendo la diferencia entre los grupos emparejados.

Materiales y métodos

Sujetos. Se emplearon 72 ratas Wistar (DP16 al iniciar el experimento), pertenecientes a 10 camadas. Se constituyeron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Contexto de extinción (AAA y ABA). Se utilizó un $n= 18$ sujetos por grupo, 9 hembras y 9 machos para el grupo ABA y 8 hembras y 10 machos para el grupo AAA.

Procedimiento.

Condicionamiento. El entrenamiento se llevó a cabo durante los DP16 y 17, con dos sesiones diarias separadas por un intervalo de dos horas. Se mantuvieron los

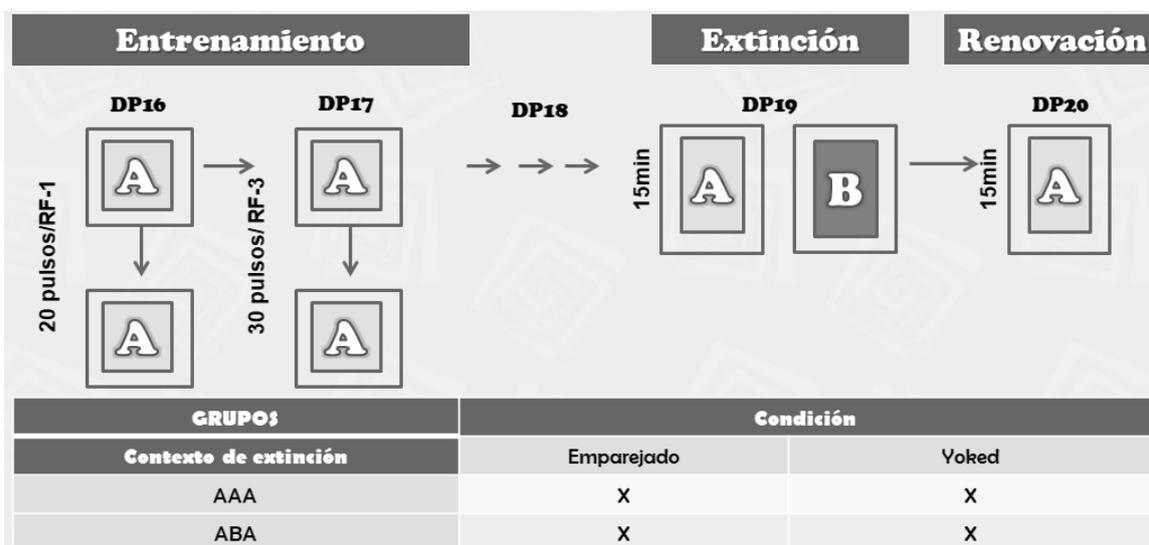
criterios de pulsos máximos y programas de reforzamiento señalados previamente.

Extinción. Se llevó a cabo el DP19, luego de 48 horas de retención del aprendizaje, intervalo en el cual los animales permanecieron en sus jaulas junto a su madre y el resto de la camada. En esta oportunidad, la mitad de los animales fue expuesta a un contexto diferente al empleado durante el condicionamiento, mientras que el resto fue colocado nuevamente en el mismo contexto de entrenamiento. Los orificios estuvieron descubiertos para permitir la ejecución de la respuesta operante. Esta fase tuvo una duración de 15 minutos y la respuesta no fue reforzada.

Renovación. El DP20, los animales fueron nuevamente expuestos a las cajas de condicionamiento siguiendo el mismo procedimiento empleado para la extinción, con la particularidad de que en esta oportunidad todos los animales fueron expuestos al mismo contexto utilizado durante el entrenamiento. Por lo tanto se conformaron dos grupos en función del contexto de extinción, el Grupo AAA y el Grupo ABA. El diseño experimental puede apreciarse en el Esquema 8.

Esquema 8

Diseño experimental del Experimento 6: Cambio de contexto y renovación a las 48 horas



El presente experimento fue diseñado para evaluar el efecto del cambio de contexto entre el entrenamiento y la prueba sobre la respuesta operante, teniendo en cuenta un intervalo de retención del aprendizaje de 48 hs. (Objetivo específico 2). También se evaluó el efecto de renovación de la respuesta bajo estas condiciones (Objetivo específico 3). Se conformaron grupos en función de la Condición de aprendizaje y el Contexto de extinción. Las letras indican los contextos utilizados en las diferentes fases experimentales para los distintos grupos.

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos separados para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas durante las fases de condicionamiento y prueba. Se empleó un diseño factorial 2X2, donde la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Contexto de extinción (AAA y ABA) fueron incluidos como variables inter-grupo para todos los análisis. Para el análisis de peso corporal el factor Día (DP16, 17,19 y 20) fue tomado como variable intra-grupo. Para el consumo del reforzador y el número de respuestas operantes durante el condicionamiento, se realizaron ANOVAs mixtos separados por cada Día de condicionamiento, y la variable Sesión (Sesión 1 y 2) fue tomada como variable intra-grupo. El número de respuestas operantes durante la extinción y la prueba de renovación se analizaron con ANOVAs mixtos separados, incluyendo bloques de 3 minutos (Bloque 1 al Bloque 5) como variable intra-grupo.

Resultados

Peso corporal y consumo del reforzador (PCG/BWG). El ANOVA mixto reveló un incremento progresivo del peso de los animales independientemente de los grupos ($F_{(3, 204)} = 112.61, p < .01$). Respecto al consumo del reforzador sólo se observó un efecto principal de sesión en los dos días de condicionamiento (DP16: $F_{(1, 68)} = 41.57, p < .01$, DP17: $F_{(1, 68)} = 18, p < .01$), siendo el consumo durante la segunda sesión significativamente mayor al de la primera para los dos días de condicionamiento. Los valores medios de consumo pueden observarse en la Tabla 9.

Tabla 9
Consumo durante las diferentes sesiones de condicionamiento

	Sesión 1		Sesión 2	
	Media (gr)	EEM±	Media (gr)	EEM±
DP16	0.04	0.004	0.08	0.004
DP17	0.09	0.006	0.12	0.005

Nivel medio de consumo del reforzador y su desviación en las sesiones de ambos días de condicionamiento. EEM hace referencia al error estándar de la media.

Número de respuestas operantes. La Figura 15 muestra el número de respuestas operantes durante la fase de condicionamiento (Figura 15a), extinción (Figura 15b) y prueba de renovación (Figura 15c). En el DP16 se observó un efecto

principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 68)} = 32.38, p < 0.01$) y de Sesión ($F_{(1, 68)} = 8.12, p < 0.01$). También se observó una interacción entre Condición de aprendizaje y Sesión ($F_{(1, 68)} = 17.74, p < 0.01$), evidenciando que los animales del grupo emparejado respondieron significativamente más que los controles en ambas sesiones, y que el nivel de respuesta de los animales emparejados fue mayor durante la segunda sesión. En el DP17 se observó que la respuesta de los animales del grupo emparejado fue significativamente mayor que la de los animales del grupo control ($F_{(1, 68)} = 149.23, p < 0.01$) y que la mayor respuesta se observó durante la segunda sesión de condicionamiento ($F_{(1, 68)} = 6.15, p < 0.05$). También se evidenció una interacción significativa entre Condición de aprendizaje y Sesión ($F_{(1, 68)} = 7.68, p < 0.01$). Nuevamente se observó que los animales del grupo emparejado respondieron más que los controles en ambas sesiones, y que el nivel de respuesta de los animales emparejados fue mayor durante la segunda sesión.

En el caso de la extinción, el ANOVA mostró un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 68)} = 26.00, p < 0.01$, mayor respuesta entre los sujetos emparejados) y de Bloque ($F_{(4, 272)} = 5.89, p < 0.01$, dos primeros bloques difieren del resto). Además, la interacción entre Bloque y Condición de aprendizaje resultó significativa ($F_{(4, 272)} = 2.82, p < 0.05$). El análisis posterior reveló que el grupo emparejado mostró un mayor nivel de respuesta durante los dos primeros bloques con respecto a los controles ($F_{(1, 68)} = 15.96, p < 0.01$ para bloque 1 y $F_{(1, 68)} = 12.37, p < 0.01$ para bloque 2) y al resto de los bloques ($F_{(4, 136)} = 4.81, p < 0.01$). A partir del tercer bloque se observó una caída en la respuesta, que no difirió del nivel de respuesta de los animales control. Curiosamente, a diferencia de lo observado en el Experimento 4C, en el cual un cambio de contexto a las 24 horas produjo una diferencia en la respuesta entre los grupos, en esta oportunidad y en consonancia con lo planteado por Anderson and Riccio (2005), el cambio de contexto no parece afectar la respuesta de los animales.

Finalmente, respecto a los datos del DP20, el análisis estadístico reveló un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 68)} = 12.87, p < 0.01$, grupo emparejado responde más que controles) y Bloque ($F_{(4, 272)} = 3.69, p < 0.01$, los

primeros tres bloques muestran valores significativamente mayores a los últimos).

No se observó otro efecto ni interacción.

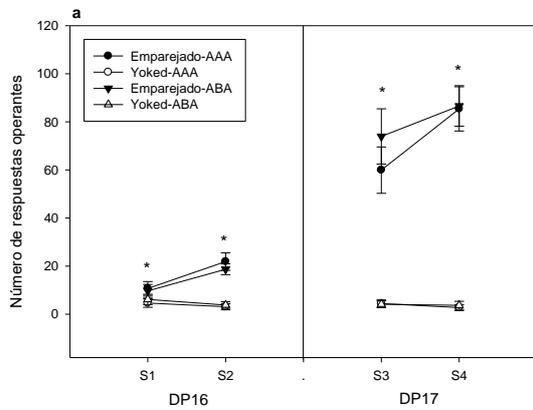
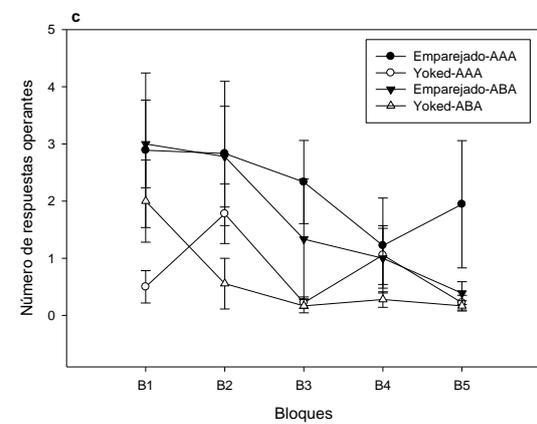
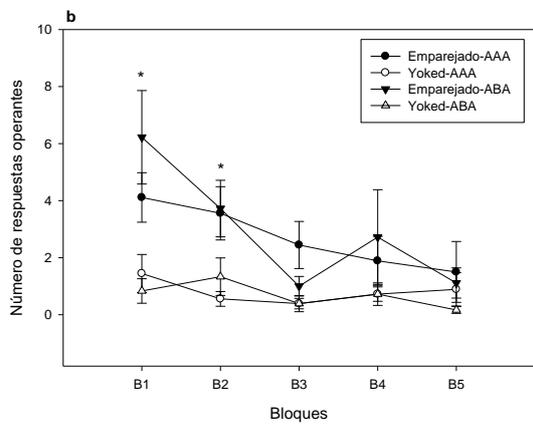


Figura 15. Número de respuestas operantes durante la fase de condicionamiento (a), extinción (b) y prueba de renovación (c) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Contexto de extinción (AAA y ABA). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM). (*) Diferencia significativa entre grupo Emparejado y Yoked.



Discusión preliminar

Nuevamente se aprecia una clara curva de adquisición, que sumado con lo observado en experimentos previos, nos permite afirmar que el procedimiento de condicionamiento resulta consistente. Es interesante remarcar que, a diferencia de lo observado luego de un intervalo de 24hs, y en consonancia con lo planteado por Anderson y Riccio (2005), a las 48 horas no se detectan diferencias entre los animales del grupo emparejado, aunque la evaluación haya sido realizada en contextos diferentes, mostrando ambos un nivel de respuesta superior al de los controles. Es posible que luego de 48 horas de retención el cambio de contexto no afecte la respuesta operante, lo que favorece la hipótesis del olvido de los atributos y el aumento en la generalización contextual. Sin embargo es llamativo que, aunque no resulta estadísticamente significativo, los niveles de respuesta de los animales emparejados del grupo ABA parecen ser mayores que la de los animales

emparejados del grupo AAA. Por su parte, la diferencia con su control también parece ser mayor a la diferencia entre los animales emparejados y yoked del grupo AAA. Finalmente, en esta oportunidad no se evidenció el efecto de renovación.

EXPERIMENTO 7: RESTABLECIMIENTO DE LA RESPUESTA EXTINGUIDA

Existe un amplio consenso respecto a que en organismos adultos la extinción de la respuesta aprendida no implica una destrucción del aprendizaje original (desaprendizaje), sino que se trata de un nuevo aprendizaje que compite con el anterior (Bouton, 1993, 2002, 2004). El restablecimiento de la respuesta es uno de los mecanismos utilizados para recuperar la respuesta extinguida. En este caso la recuperación de la respuesta ocurre cuando el sujeto es expuesto al reforzador (recordatorio) luego de la extinción. A continuación se presentan dos experimentos con el objetivo de evaluar si la respuesta extinguida puede recuperarse mediante un procedimiento de restablecimiento en ratas infantas. En el Experimento 7A se evaluó el restablecimiento empleando un mismo contexto para todas las fases experimentales (AAAA). Para el Experimento 7B se examinó el efecto cambiando el contexto al momento de la extinción (ABBB).

EXPERIMENTO 7A: RESTABLECIMIENTO AAAA

Siguiendo el protocolo de condicionamiento y extinción detallados previamente, se estudió si la respuesta operante extinguida podía recuperarse empleando un recordatorio previo a la prueba un día después de la extinción.

Materiales y métodos

Sujetos. Se emplearon 52 ratas Wistar (DP16 al iniciar el experimento), pertenecientes a 10 camadas. Se constituyeron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y fase de Restablecimiento (REST y N-REST). Se utilizó un $n=13$ sujetos por grupo, 6 hembras y 7 machos para el grupo REST y 7 hembras y 6 machos para el grupo N-REST.

Procedimiento. Todas las fases descriptas a continuación fueron realizadas en un único contexto (caja de paredes blancas con esencia de naranja 0.3% v/v).

Condicionamiento. El entrenamiento se llevó a cabo durante los DP16 y 17, con dos sesiones diarias separadas por un intervalo de dos horas. Se mantuvieron los criterios de pulsos máximos y programas de reforzamiento.

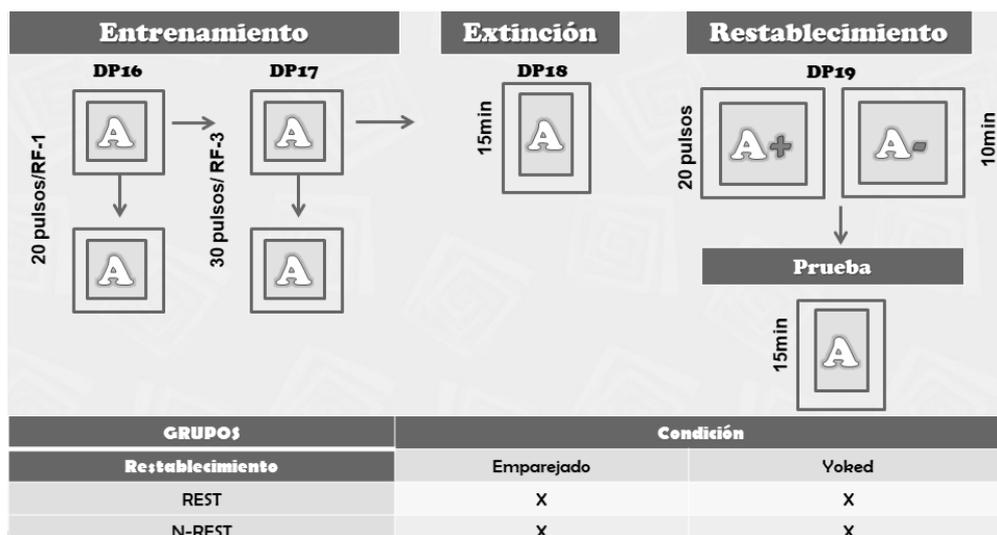
Extinción. Se realizó el DP18 y el procedimiento fue idéntico al descrito en el experimento anterior, excepto que en esta oportunidad el contexto empleado fue el mismo usado durante el entrenamiento para todos los animales.

Restablecimiento. El DP19, los animales fueron colocados nuevamente en la caja de entrenamiento. En esta oportunidad, los orificios y arandelas fueron cubiertos con el fin de que los animales no realicen la respuesta operante. La mitad de los animales (grupo REST) recibió 20 pulsos del reforzador, separados por un intervalo de 30 segundos por pulso, con una duración total de 10 minutos. Posteriormente los animales fueron retirados y colocados nuevamente en la caja de alojamiento durante dos horas hasta el momento de la prueba. Los animales del grupo no restablecido (grupo N-REST) también fueron colocados en las cajas por un período de 10 minutos, pero en esta el reforzador no fue administrado.

Prueba. La evaluación se llevó a cabo dos horas después del restablecimiento y fue idéntica a la extinción. El diseño experimental puede apreciarse en el Esquema 9.

Esquema 9

Diseño experimental del Experimento 7A: Restablecimiento AAAA



El presente experimento evalúa el restablecimiento de la respuesta operante (Objetivo específico 4). Se conformaron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje y el Restablecimiento. La letra "A" indica que se empleó el mismo contexto en todas las fases. El signo "+" indica administración del reforzador (Grupo REST) y el "-" ausencia de reforzador (Grupo N-REST).

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos separados para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas durante las fases de condicionamiento y prueba. Se empleó un diseño factorial 2X2, donde la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Restablecimiento (REST y N-REST) fueron incluidos como variables inter-grupo para todos los análisis. Para el análisis de peso corporal el factor Día (DP16-19) fue tomado como variable intra-grupo. Para el consumo del reforzador y el número de respuestas operantes durante el condicionamiento, se realizaron ANOVAs mixtos separados por cada Día de condicionamiento, y la Sesión (Sesión 1 y 2) se incluyó como variable intra-grupo. El número de respuestas operantes durante la extinción y la prueba de restablecimiento se analizó empleando ANOVAs mixtos separados, incluyendo el factor Bloque (Bloque 1 al Bloque 5) que contempla intervalos de 3 minutos como variable intra-grupo.

Resultados

Peso corporal y consumo del reforzador (PCG/BWG). El peso corporal incrementó a lo largo de los días ($F_{(3, 144)} = 147.86, p < 0.01$) y no difirió entre los grupos. Durante el DP16 y DP17, el consumo difirió entre las sesiones [PD16: ($F_{(1, 48)} = 35.03, p < 0.01$), PD17: ($F_{(1, 48)} = 23.92, p < 0.01$)], y no hubo diferencias entre los grupos. El nivel de consumo a lo largo de las diferentes sesiones puede observarse en la Tabla 10.

Tabla 10
Consumo durante las diferentes sesiones de condicionamiento

	Sesión 1		Sesión 2	
	Media (gr)	EEM±	Media (gr)	EEM±
DP16	0.06	0.005	0.09	0.004
DP17	0.09	0.008	0.13	0.006

Nivel medio de consumo del reforzador y su desviación en las sesiones de ambos días de condicionamiento. EEM hace referencia al error estándar de la media.

Número de respuestas operantes. La Figura 16 muestra el número de respuestas operantes durante el condicionamiento (Figura 16a), extinción (Figura 16b) y restablecimiento (Figura 16c) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Restablecimiento (REST y N-REST). Durante el primer día de condicionamiento (DP16), el análisis mostró un efecto de Condición de

aprendizaje ($F_{(1, 48)} = 28.09, p < 0.01$, grupo emparejado mostró un nivel más alto de respuesta con respecto a los controles) y una interacción entre Condición de aprendizaje y Sesión ($F_{(1, 48)} = 20.62, p < 0.01$), siendo los animales del grupo emparejado los que mostraron un incremento significativo de la respuesta, además de responder más que los controles. En el DP17, se observó un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 48)} = 181.46, p < 0.01$, mayor respuesta entre los animales del grupo emparejado), de Sesión ($F_{(1, 48)} = 5.08, p < 0.05$, mayor respuesta en la segunda sesión), y una interacción entre Condición de aprendizaje y Sesión ($F_{(1, 48)} = 11.68, p < 0.01$). El análisis post-hoc reveló que los animales del grupo emparejado no sólo difirieron de sus controles en ambas sesiones, sino que incrementaron el número de respuesta a lo largo de las sesiones.

Respecto a la fase de Extinción, el ANOVA reveló un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 48)} = 23.46, p < 0.01$) y de Bloque ($F_{(4, 192)} = 13.77, p < 0.01$). La interacción entre Condición de aprendizaje y Bloque resultó significativa ($F_{(4, 192)} = 5.21, p < 0.01$). Los animales del grupo emparejado difirieron significativamente de sus controles durante los primeros dos bloques de extinción. A partir del tercer bloque no se observaron diferencias con la respuesta de los animales del grupo control. Además, se evidenciaron diferencias entre estos dos bloques, y de estos con el resto. No hubo diferencias entre los bloques para los animales del grupo control. Como se esperaba, no se encontraron diferencias entre los animales emparejados del grupo REST y N-REST.

Para el caso de la prueba, y como puede apreciarse en la figura, no se detectaron efectos ni interacciones significativas.

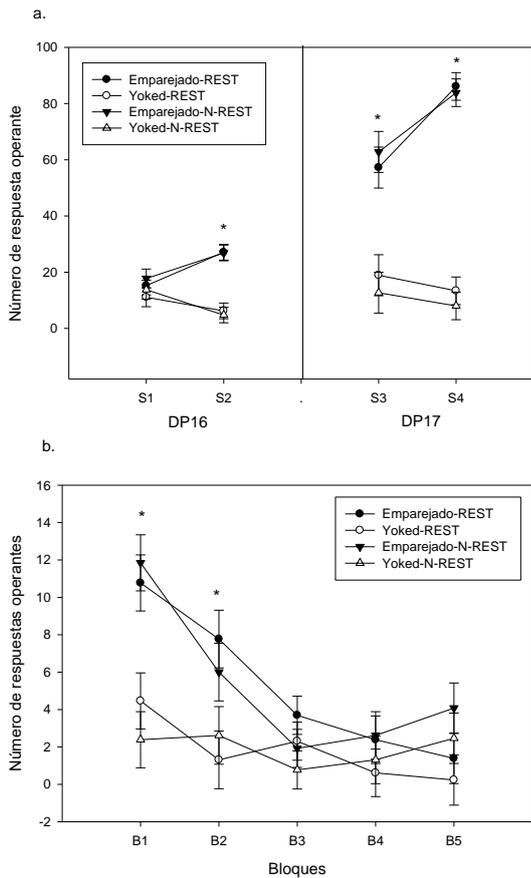


Figura 16. Número de respuestas operantes durante el condicionamiento (a), extinción (b) y restablecimiento (c) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Restablecimiento (REST y N-REST). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM). (*) Diferencia significativa entre grupo Emparejado y Yoked.

Discusión preliminar

Aunque la curva de adquisición nuevamente expresa un aumento claro de la respuesta operante, y la retención del aprendizaje se observa 24 horas después del entrenamiento, el protocolo empleado no fue suficiente para generar el restablecimiento de la respuesta extinguida. Como ha sido mostrado por Reville et al. (2016), el cambio de contexto al momento de la extinción facilita la expresión del efecto de restablecimiento, por lo que en un experimento posterior se decidió evaluar nuevamente el restablecimiento pero en esta oportunidad se empleó un nuevo contexto al momento de la extinción.

EXPERIMENTO 7B: RESTABLECIMIENTO ABBB

Reville y cols. (2016) han reportado el efecto de restablecimiento en ratas infantiles en diferentes experimentos. La principal diferencia entre su trabajo y el presente estudio radica en que ellos utilizan una tarea de condicionamiento de miedo, y en el presente estudio se emplea una tarea operante. Sin embargo, como

se indicó, en el Experimento 4C del presente trabajo doctoral pudo observarse la recuperación de la respuesta operante extinguida por medio de un procedimiento de renovación. Más allá de esta diferencia, existen otras diferencias entre este estudio y el de Reville y cols. (2016) que merecen ser consideradas. En ese estudio los autores introdujeron un cambio de contexto entre el condicionamiento y la extinción, lo que facilitó la expresión del condicionamiento y el efecto de restablecimiento en los infantes. Aunque el efecto no ha sido previamente reportado en la literatura sobre extinción, en el siguiente experimento se decidió evaluar esta posibilidad. Por lo tanto, se repitió el experimento anterior pero con la inclusión del cambio de contexto entre las fases de condicionamiento y extinción (un diseño ABBB).

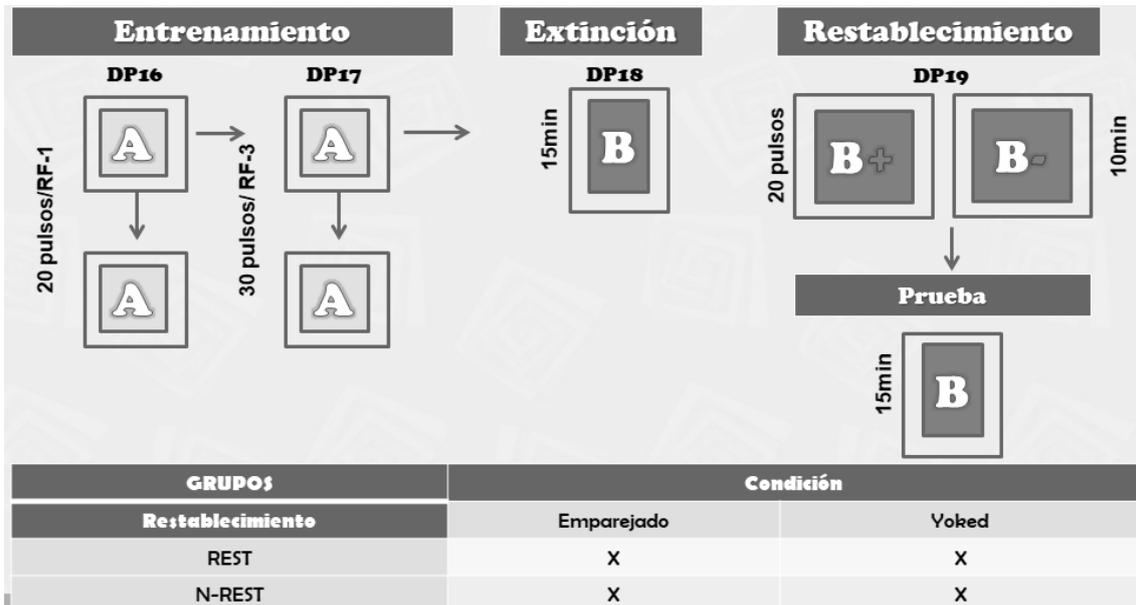
Materiales y métodos

Sujetos. Un total de 48 ratas Wistar (DP16 al iniciar el experimento) fueron utilizadas en este experimento, pertenecientes a 9 camadas. Se constituyeron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y el Restablecimiento (REST y N-REST). Se utilizó un $n= 12$ animales por grupo, 6 machos y 6 hembras por grupo.

Procedimiento. Las fases de condicionamiento, extinción, recordatorio y prueba fueron idénticas a las descritas para el experimento 7A. La única diferencia entre ambos experimentos fue que en la fase de extinción se empleó un nuevo contexto (B), el cual se mantuvo para las fases siguientes (recordatorio y prueba). Por lo tanto, el condicionamiento se llevó a cabo en el contexto A, mientras que las fases de extinción, recordatorio y prueba se realizaron en el contexto B. Como en los experimentos previos en los cuales se emplearon dos contextos, los mismos fueron contrabalanceados. El diseño experimental puede apreciarse en el Esquema 10.

Esquema 10

Diseño experimental del Experimento 7B: Restablecimiento AB BB



El presente experimento fue diseñado para evaluar el restablecimiento de la respuesta operante (Objetivo específico 4). Se conformaron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje y el Restablecimiento. Las letras indican los contextos en los cuales se llevaron a cabo las diferentes fases experimentales. El signo “+” da cuenta de la presencia del reforzador (Grupo REST) y el “-” de su ausencia (Grupo N-REST).

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos separados para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas durante las fases de condicionamiento y prueba. Se empleó un diseño factorial 2X2, donde la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Restablecimiento (REST y N-REST) fueron incluidos como variables inter-grupo para todos los análisis. Para el análisis de peso corporal el factor Día (DP16-19) fue tomado como variable intra-grupo. Para el consumo del reforzador y el número de respuestas operantes durante el condicionamiento, se realizaron ANOVAs mixtos separados por cada Día de condicionamiento, y la Sesión (Sesión 1 y 2) fue tomada como variable intra-grupo. El número de respuestas operantes durante la extinción y la prueba de renovación se analizó con ANOVAs mixtos separados, incluyendo el factor Bloque (Bloque 1 al Bloque 5) como variable intra-grupo.

Resultados

Peso corporal y consumo del reforzador (PCG/BWG). El análisis reveló un incremento progresivo del peso corporal a lo largo de los días ($F_{(3, 132)} = 159.52, p <$

0.01) y esta variable no difirió entre los grupos. Durante los DP16 y DP17, el consumo fue significativamente mayor durante la segunda sesión [DP16: ($F_{(1, 44)} = 22.41, p < 0.01$); DP 17: ($F_{(1, 44)} = 10.96, p < 0.01$)] y fue similar para todos los grupos. En la Tabla 11 pueden observarse los valores de consumo a lo largo de las sesiones.

Tabla 11
Consumo durante las diferentes sesiones de condicionamiento

	Sesión 1		Sesión 2	
	Media (gr)	EEM±	Media (gr)	EEM±
DP16	0.05	0.005	0.08	0.005
DP17	0.05	0.008	0.08	0.01

Nivel medio de consumo del reforzador y su desviación en las sesiones de ambos días de condicionamiento. EEM hace referencia al error estándar de la media.

Número de respuestas operantes. La Figura 17 muestra el número de respuestas operantes durante el condicionamiento (Figura 17a), extinción (Figura 17b) y prueba (Figura 17c) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Restablecimiento (REST y N-REST). En el DP16 los animales del grupo emparejado respondieron significativamente más que los controles ($F_{(1, 44)} = 14.55, p < 0.01$) y esta diferencia se expresó más claramente durante la segunda sesión de condicionamiento, donde se ve un aumento de la respuesta con respecto a la primera sesión, aunque la interacción Condición de aprendizaje y Sesión queda al borde de la significación ($F_{(1, 44)} = 3.72, p = .06$). Ese incremento en el número de respuestas entre los animales del grupo emparejado con respecto a los controles también se observó el DP17 ($F_{(1, 44)} = 31.91, p < 0.01$).

Para el caso de la extinción, el ANOVA reflejó un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 44)} = 11.52, p < 0.01$, sujetos emparejados responden más que los controles) y de Bloque ($F_{(4, 176)} = 6.48, p < 0.01$), siendo los dos primeros los más altos con respecto al resto. Asimismo, las interacciones entre Condición de aprendizaje y Bloque ($F_{(4, 176)} = 6.77, p < 0.01$) y Restablecimiento y Bloque ($F_{(4, 176)} = 3.29, p < 0.05$) también resultaron significativas, siendo ésta última inesperada. En ambos casos, las diferencias se observaron en los dos primeros bloques. Para el caso de la primera interacción, los animales del grupo emparejado difirieron de los controles durante los dos primeros bloques. A su vez, el número de respuestas durante los dos primeros bloques fue mayor que la del

resto de los bloques. Respecto a la segunda interacción, si bien existen diferencias entre bloques, la comparación entre sujetos del grupo restablecido y el grupo no restablecido en cada bloque no arroja diferencias. Finalmente, la triple interacción estuvo cercana a la significación estadística ($F_{(4, 176)} = 2.32, p = 0.06$), un resultado que no fue esperado.

Para el caso del restablecimiento, el ANOVA mostró un efecto principal de Bloque ($F_{(4, 176)} = 2.52, p < 0.05$), y una interacción entre Condición de aprendizaje y Bloque ($F_{(4, 176)} = 2.92, p < 0.05$), siendo el primer bloque donde se encuentran las diferencias. El dato más relevante para el objetivo del trabajo fue que la interacción entre Condición de aprendizaje, Restablecimiento y Bloque resultó estadísticamente significativa ($F_{(4, 176)} = 2.75, p < 0.05$). El análisis posterior reveló que los animales emparejados del grupo restablecido respondieron significativamente más que el resto de los animales durante el primer bloque de la prueba. A partir del segundo bloque no se aprecian diferencias entre los grupos.

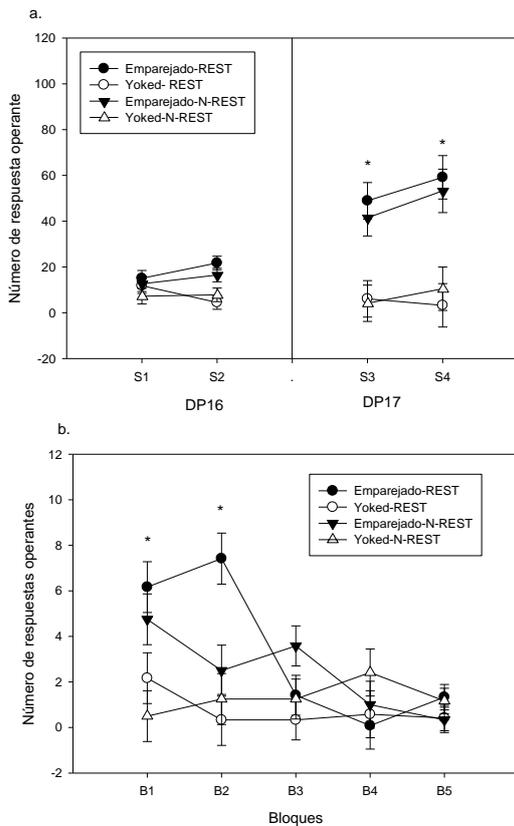
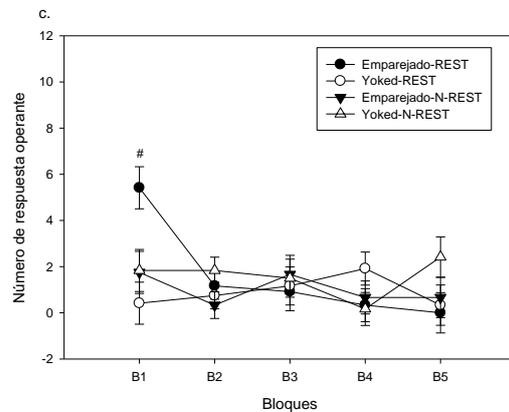


Figura 17. Número de respuestas operantes durante el condicionamiento (a), extinción (b) y prueba (c) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Restablecimiento (REST y N-REST). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM). (*) Diferencia entre grupo Emparejado y Yoked. (#) Diferencia entre grupo Emparejado-REST y el resto de los grupos.



Discusión preliminar

El protocolo empleado en esta oportunidad nuevamente generó un perfil de respuesta similar al observado en los experimentos anteriores durante la adquisición y la extinción. Interesantemente, en este caso el recordatorio efectivamente influyó en la respuesta durante la prueba, permitiendo observar la recuperación de la respuesta operante extinguida. El grupo emparejado que no recibió el recordatorio (Emparejado N-REST) falló en mostrar la recuperación de la extinción, indicando que este protocolo no es lo suficientemente sensible para detectar recuperación espontánea, y confirmando la importancia del recordatorio. Es importante notar que la diferencia principal entre el Experimento 7A y 7B fue el cambio de contexto entre las fases de adquisición y extinción.

EXPERIMENTO 8: DEPENDENCIA CONTEXTUAL DEL RECORDATORIO

Un aspecto importante del restablecimiento es que se encuentra fuertemente controlado por el condicionamiento contextual producido cuando el reforzador (recordatorio) es presentado, por lo que el fenómeno es fuerte cuando el aprendizaje es evaluado en el contexto donde el recordatorio ha ocurrido (Bouton, 2002). En un experimento con ratas adultas, Baker y Bouton (1991) han demostrado que el restablecimiento es específico del contexto en el cual ocurre, y observaron que el condicionamiento contextual está involucrado en el restablecimiento del aprendizaje operante. Específicamente, los autores evidenciaron que exposiciones al contexto posteriores al restablecimiento reducían la recuperación de la respuesta. Además, usando un diseño intra-sujeto, mostraron que al condicionar y extinguir en dos contextos, pero restablecer solo en uno de ellos, se produce la recuperación de la respuesta solo en el contexto del restablecimiento. Debido a que la hipótesis neuromaduracional asume que los infantes son incapaces de aprender respecto a la información contextual, el efecto de restablecimiento observado en el experimento anterior debería ser independiente del contexto.

Luego de observar que la respuesta extinguida podía recuperarse empleando un recordatorio luego de la extinción, lo que se intentó fue evaluar la

dependencia contextual del fenómeno de restablecimiento. En el Experimento 8A se examinó si una exposición prolongada y no reforzada al contexto posterior al restablecimiento reduciría el efecto de restablecimiento. En el Experimento 8B se exploró el restablecimiento de la respuesta al evaluar en un contexto diferente al usado al momento del restablecimiento.

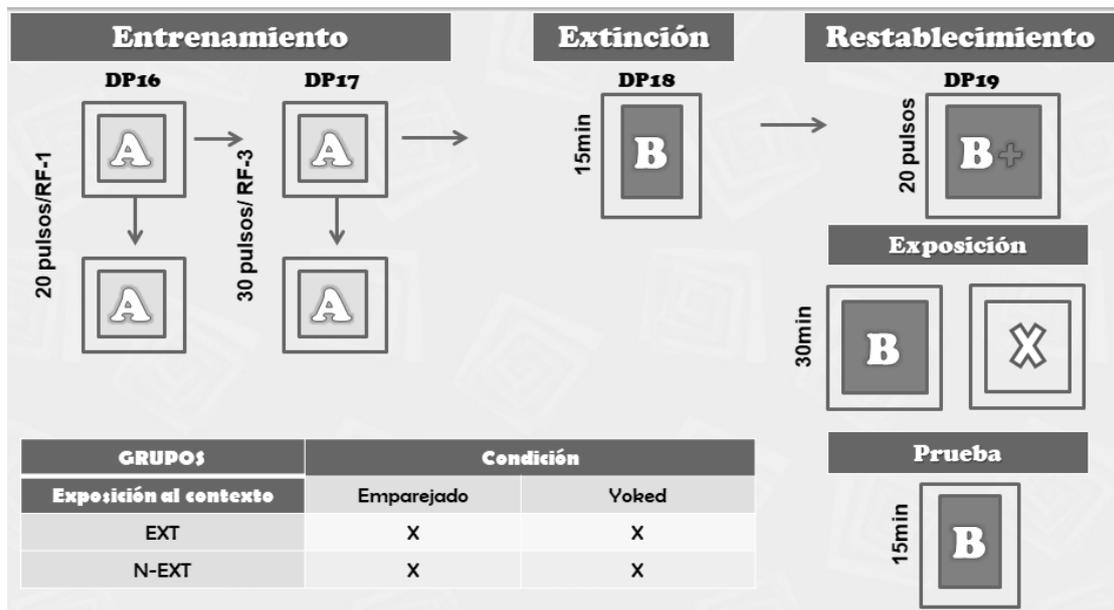
EXPERIMENTO 8A: EXPOSICIÓN NO REFORZADA AL CONTEXTO DEL RESTABLECIMIENTO

Sujetos. Se empleó un total de 36 ratas Wistar infantas (DP16 al iniciar el experimento) pertenecientes a 9 camadas. Se constituyeron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Exposición al contexto (EXT y N-EXT). Se utilizó un $n=9$ animales por grupo, 5 machos y 4 hembras para el grupo N-EXT y 4 machos y 5 hembras para el grupo EXT.

Procedimiento. Las fases de condicionamiento, extinción, recordatorio y prueba fueron idénticas a las descritas para el experimento 7B. Los animales del grupo extinguido (grupo EXT) dos horas después de la fase de recordatorio fueron colocados en las cajas de entrenamiento durante 30 minutos. Estas permanecieron con los orificios y arandelas cubiertas, sin reforzamiento. Transcurrido este tiempo los animales fueron retirados, colocados en la caja de aislamiento durante 5 minutos, mientras se alistaban las cajas para poder correr la prueba. Los animales del grupo N-EXT fueron evaluados dos horas después del restablecimiento, y no recibieron ninguna otra manipulación. La evaluación fue idéntica a la extinción. El diseño experimental puede apreciarse en el Esquema 11.

Esquema 11

Diseño experimental del Experimento 8A: Exposición no reforzada al contexto de restablecimiento



El presente experimento fue diseñado para evaluar el restablecimiento de la respuesta operante y su especificidad contextual (Objetivo específico 4). Se conformaron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje y la Exposición al contexto. Las letras dan cuenta de los contextos empleados durante las diferentes fases. El signo “+” indica la administración del reforzador. La “X” indica que ese grupo (N-EXT) no fue expuesto al contexto antes de la prueba.

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos separados para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas durante las fases de condicionamiento, extinción y prueba. Se empleó un diseño factorial 2X2, donde la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Exposición al contexto (EXT y N-EXT) fueron incluidos como variables inter-grupo para todos los análisis. Para el análisis de peso corporal el factor Día (DP16-19) fue tomado como variable intra-grupo. Para el consumo del reforzador y el número de respuestas operantes durante el condicionamiento, se realizaron ANOVAs mixtos separados por cada Día de condicionamiento, y el factor Sesión (Sesión 1 y 2) fue considerado como variable intra-grupo. El número de respuestas operantes durante la extinción y la prueba fue analizado con ANOVAs mixtos separados, donde el factor Bloque (Bloque 1 al Bloque 5), dividido en intervalos de 3 minutos, se consideró como variable intra-grupo.

Resultados

Peso corporal y consumo del reforzador (PCG/BWG). El análisis reveló un incremento significativo del peso de los animales a lo largo de los días del

experimento ($F_{(3, 96)} = 342.09, p < .01$) y no se observaron diferencias entre los grupos. Los análisis para los niveles de consumo durante el DP16 y DP17 no arrojaron ningún efecto principal ni interacción significativa. Los valores de consumo pueden observarse en la Tabla 12.

Tabla 12
Consumo durante las diferentes sesiones de condicionamiento

	Sesión 1		Sesión 2	
	Media (gr)	EEM±	Media (gr)	EEM±
DP16	0.10	0.027	0.10	0.006
DP17	0.13	0.008	0.14	0.008

Nivel medio de consumo del reforzador y su desviación en las sesiones de ambos días de condicionamiento. EEM hace referencia al error estándar de la media.

Número de respuestas operantes. En la Figura 18 se puede apreciar el número de respuestas operantes durante el entrenamiento (Figura 18a), extinción (Figura 18b) y prueba (Figura 18c) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y la Exposición al contexto (EXT y N-EXT). El ANOVA para el DP16 mostró un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 32)} = 16.90, p < 0.01$, respuesta mayor entre los animales del grupo emparejado), de Exposición al contexto ($F_{(1, 32)} = 4.62, p < 0.05$, siendo mayor el número de respuesta del grupo No-EXT) y una interacción entre Condición de aprendizaje y Sesión ($F_{(1, 32)} = 6.01, p < 0.05$) siendo significativamente mayores las respuestas del grupo emparejado durante la segunda sesión. Al DP17 sólo se observó un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 32)} = 250.29, p < 0.01$) siendo los animales del grupo emparejado los que mostraron un mayor nivel de respuesta.

Durante la fase de extinción se observó un efecto principal de Condición de aprendizaje ($F_{(1, 32)} = 12.17, p < 0.01$), siendo el grupo emparejado el que presentó el mayor número de respuestas. También se observó un efecto principal de Bloque ($F_{(4, 128)} = 3.65, p < 0.01$, dos primeros bloques mayores que el último). En esta oportunidad la interacción entre Condición de aprendizaje y Bloque no resultó significativa.

Por último, respecto a la prueba, el ANOVA reveló un efecto principal de Exposición al contexto ($F_{(1, 32)} = 5.65, p < 0.05$, más respuestas en el grupo EXT) y de Bloque ($F_{(4, 128)} = 13.84, p < 0.01$, los primeros dos bloques difieren entre si y del

resto de los bloques). También se observó una interacción entre Condición de aprendizaje y Bloque ($F_{(4, 128)} = 2.74, p < 0.05$). En este caso se aprecia que el nivel de respuesta del grupo emparejado durante el primer bloque es significativamente mayor al resto de los bloques, tanto con respecto a los controles como con respecto a las respuestas de este mismo grupo a lo largo de los bloques de prueba. También se aprecia una interacción entre Bloque y Exposición al contexto ($F_{(4, 128)} = 2.59, p < 0.05$). En esta oportunidad, la respuesta del grupo N-EXT es alta durante el primer bloque, y luego se aprecia un decaimiento de la misma. Esa caída también se observa en el grupo EXT, aunque el elevado nivel de respuesta se extiende a los primeros dos bloques. Estos grupos sólo difieren entre sí durante el segundo bloque, siendo el grupo EXT el que más responde. La triple interacción no resultó significativa.

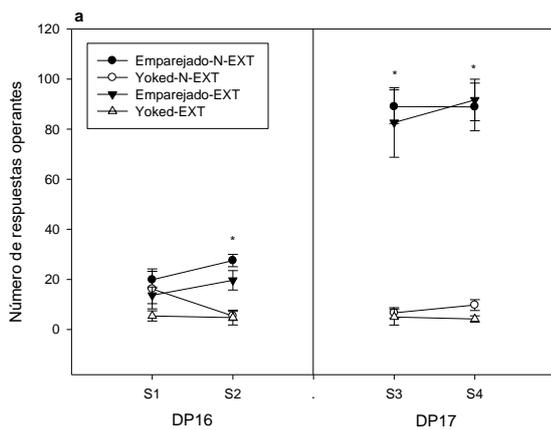
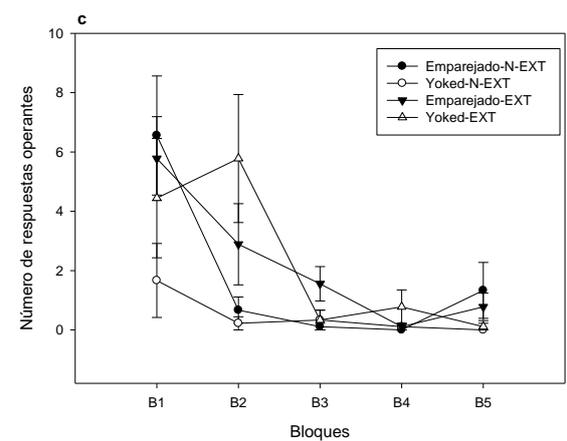
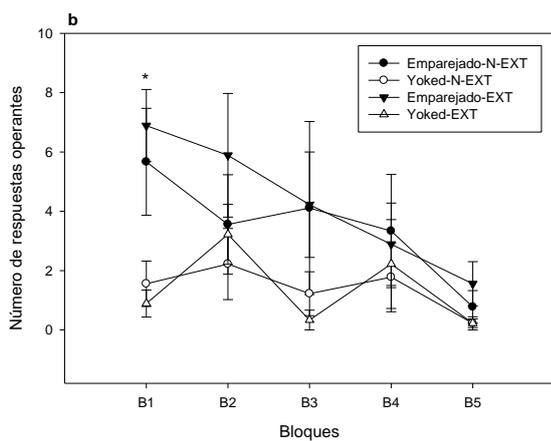


Figura 18. Número de respuestas operantes durante el entrenamiento (a), extinción (b) y prueba (c) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y la Exposición al contexto (EXT y N-EXT). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM). (*) Diferencia significativa entre grupo Emparejado y Yoked.



Discusión preliminar

Nuevamente se replican los patrones de adquisición y extinción observados en experimentos previos. Sin embargo, la exposición no reforzada al contexto no parece reducir el efecto del restablecimiento, aunque resulta llamativo que esta manipulación genere un aumento en el número de respuestas entre los animales del grupo control.

EXPERIMENTO 8B: RECORDATORIO EN CONTEXTO DIFERENTE

Teniendo en cuenta que en experimentos anteriores la dependencia contextual del aprendizaje parece expresarse más claramente cuando se emplea un cambio de contexto en lugar de la exposición no reforzada al contexto, en esta oportunidad se evaluó la dependencia contextual del restablecimiento administrando el recordatorio en un contexto diferente (Contexto C).

Materiales y métodos

Sujetos. Se usaron un total de 28 ratas Wistar infantas (DP16 al iniciar el experimento) provenientes de 7 camadas. Se constituyeron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y el Contexto de restablecimiento (ABBB y ABCB). Se utilizó un $n=7$ animales por grupo, 3 machos y 4 hembras en el grupo ABBB y 4 machos y 3 hembras para los grupos ABCB.

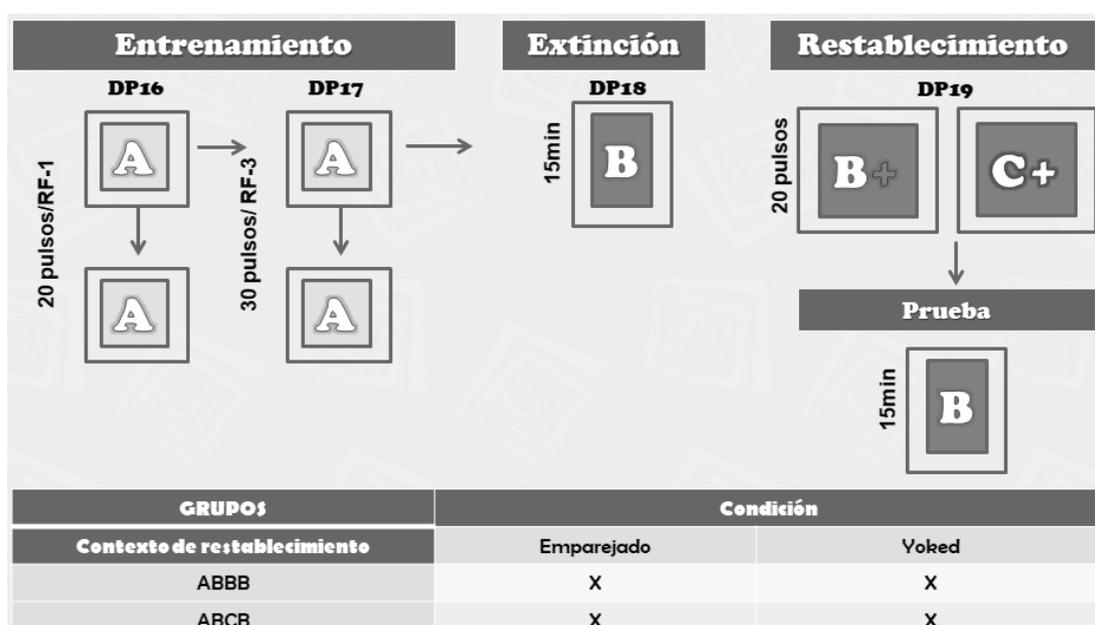
Procedimiento. Los aparatos y las soluciones fueron idénticos a los usados en los experimentos previos, con la excepción de que en esta oportunidad se emplearon 3 contextos diferentes. Dos de ellos fueron las cajas de condicionamiento descritas previamente (cajas blancas y negras con sus claves olfatorias correspondientes). El tercer contexto fue una caja blanca circular (13cm de diámetro y 17cm de alto) con líneas negras verticales (1 cm de ancho), aromatizada con menta (0.3% v/v Esencias del Boticario). La esencia se colocó en el algodón ubicado en la tapa de la caja en una cantidad de 1 ml. Este contexto se empleó durante la fase de restablecimiento para el grupo ABCB. Las tapas fueron transparentes, posibilitando el ingreso de luz al interior de las cajas.

Condicionamiento. Las sesiones de condicionamiento fueron similares a las descritas en el experimento anterior.

Extinción, restablecimiento y prueba. Los procedimientos empleados en estas fases fueron los mismos utilizados para el Experimento 7B, pero en esta oportunidad, todos los grupos fueron expuestos a una sesión de restablecimiento. El grupo ABBB recibió los pulsos del reforzador en el mismo contexto usado para la extinción, mientras que para el grupo ABCB el restablecimiento se llevó a cabo en la caja circular (nuevo contexto) descrito previamente. La prueba se realizó en el mismo contexto usado durante la extinción y el procedimiento fue idéntico. El diseño experimental puede observarse en el Esquema 12.

Esquema 12

Diseño experimental del Experimento 8B: Recordatorio en contexto diferente



El presente experimento fue diseñado para evaluar el restablecimiento de la respuesta operante y su especificidad contextual (Objetivo específico 4). Se conformaron 4 grupos en función de la Condición de aprendizaje y el Contexto de restablecimiento. Las letras indican los contextos empleados durante las diferentes fases experimentales. El signo “+” indica que el reforzador fue administrado.

Análisis de datos. Se realizaron ANOVAs mixtos separados para analizar el peso corporal, el consumo del reforzador (PCG/BWG) y el número de respuestas durante las fases de condicionamiento, extinción y prueba. Se empleó un diseño factorial 2X2, donde la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y Contexto de restablecimiento (ABBB y ABCB) fueron incluidos como variables inter-grupo

para todos los análisis. Para el análisis de peso corporal el factor Día (DP16-19) fue tomado como variable intra-grupo. Para el consumo del reforzador y el número de respuestas operantes durante el condicionamiento, se realizaron ANOVAs mixtos separados por cada Día de condicionamiento, y el factor Sesión (Sesión 1 y 2) se incluyó como variable intra-grupo. El número de respuestas operantes durante la extinción y la prueba fue analizado con ANOVAs mixtos separados, incluyendo la variable Bloque (Bloque 1 al Bloque 5) como variable intra-grupo.

Resultados

Peso corporal y consumo del reforzador (PCG/BWG). El ANOVA reveló que el peso corporal incrementó progresivamente a lo largo de los días ($F_{(3, 72)} = 77.27, p < 0.01$). El consumo durante el DP16 no difirió entre las sesiones. En el DP17, el consumo durante la Sesión 2 fue significativamente mayor que durante la Sesión 1 ($F_{(1, 24)} = 12.29, p < .05$). No se observaron diferencias entre los grupos. Los valores de consumo se presentan en la Tabla 13.

Tabla 13
Consumo durante las diferentes sesiones de condicionamiento

	Sesión 1		Sesión 2	
	Media (gr)	EEM±	Media (gr)	EEM±
DP16	0.03	0.007	0.04	0.008
DP17	0.09	0.01	0.12	0.008

Nivel medio de consumo del reforzador y su desviación en las sesiones de ambos días de condicionamiento. EEM hace referencia al error estándar de la media.

Número de respuestas operantes. La Figura 19 muestra el número de respuestas operantes durante el condicionamiento (Figura 19a), extinción (Figura 19b) y prueba (Figura 19c) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y el Contexto de restablecimiento (ABBB y ABCB). En el primer día de entrenamiento (DP16), los sujetos emparejados respondieron significativamente más que los yoked ($F_{(1, 24)} = 7.77, p < .05$). El ANOVA para los datos del segundo día de condicionamiento (DP17) reveló una interacción significativa entre Condición de aprendizaje y Sesión ($F_{(1, 24)} = 4.50, p < .05$). Esta interacción respondió a un

incremento significativo en el número de respuestas operantes en la Sesión 2, pero solo entre los sujetos del grupo emparejado. Asimismo, el grupo emparejado difirió de los controles durante las dos sesiones. Como era esperable, el factor Contexto de restablecimiento no ejerció ningún efecto significativo ni interactuó con ningún otro factor.

Respecto a la extinción, la interacción entre Condición de aprendizaje y Bloque fue estadísticamente significativa ($F_{(4, 96)} = 3.38, p < .05$), siendo las respuestas de los animales del grupo emparejado durante los primeros dos bloques mayores al resto de los bloques y de los controles. Como se esperaba, el Contexto de restablecimiento no ejerció ningún efecto ni interactuó con los demás factores bajo análisis.

En el caso de la prueba, la interacción entre Condición de aprendizaje, Bloque y Contexto de restablecimiento resultó estadísticamente significativo ($F_{(4, 96)} = 3.17, p < .05$). Se condujeron ANOVAs secuenciales para cada bloque (Condición de aprendizaje por Contexto de restablecimiento). Estos análisis revelaron una interacción significativa entre estos factores durante el primer bloque ($F_{(1, 24)} = 12.22, p < .01$), en la cual, de acuerdo con la prueba post-hoc, el grupo emparejado ABBB respondió significativamente más que el resto de los grupos. Además, se condujeron ANOVAs de medidas repetidas para cada grupo a los fines de analizar diferencias en el número de respuestas operantes a lo largo de los 5 bloques. Estos ANOVAs revelaron un efecto significativo de Bloque solo en el grupo emparejado ABBB ($F_{(4, 24)} = 2.79, p < .05$), indicando que los sujetos de este grupo respondieron más durante el primer bloque que en los restantes.

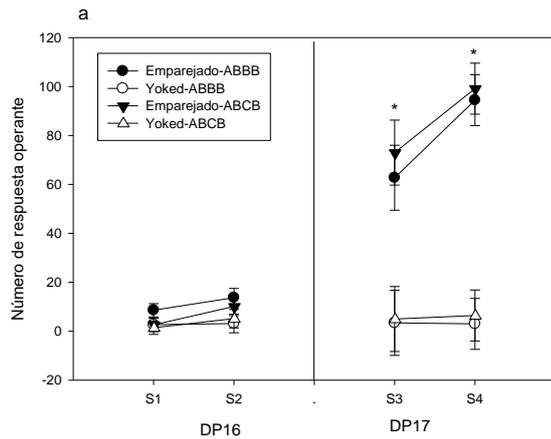
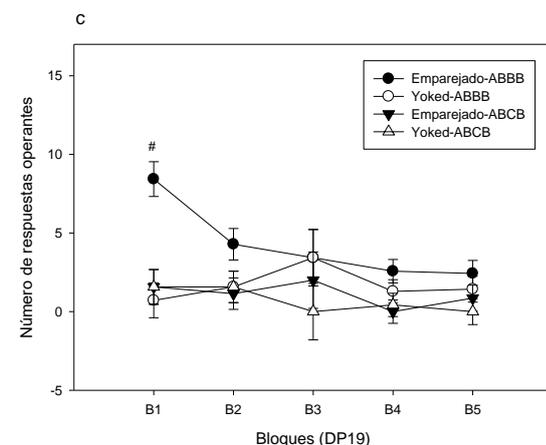
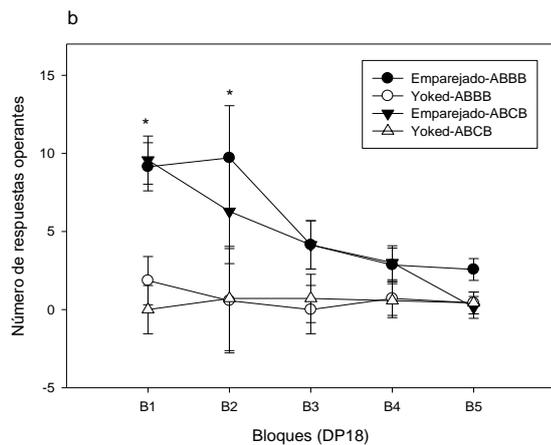


Figura 19. Número de respuestas operantes durante el condicionamiento (a), extinción (b) y prueba (c) en función de la Condición de aprendizaje (Emparejado y Yoked) y el Contexto de restablecimiento (ABBB y ABCB). Las barras de error representan el error estándar de la media (EEM). (*) Diferencia significativa entre grupos Emparejados y Yoked. (#) Diferencia entre grupo Emparejado-ABBB y el resto de los grupos.



Discusión preliminar

Los resultados del presente experimento replicaron la curva de adquisición observada en los experimentos previos. Además, durante la fase de extinción, los animales del grupo emparejado respondieron significativamente más que los controles durante los dos primeros bloques, y redujeron su respuesta a niveles bajos durante los últimos bloques, como fue observado en experimentos previos. Sin embargo, el objetivo principal de este experimento fue evaluar la dependencia contextual del efecto de restablecimiento. Para este fin, el grupo ABBB atravesó la fase de restablecimiento y prueba en el mismo contexto, mientras que el grupo ABCB recibió el recordatorio en un contexto diferente del usado durante la prueba. Los datos revelaron que solo los animales del grupo emparejado ABBB recuperaron la respuesta extinguida. Este resultado se presenta como un dato a favor del supuesto de que el restablecimiento es dependiente del contexto y, más importante para este estudio, que este aprendizaje contextual está presente durante las tempranas etapas del desarrollo.

1. DESARROLLO DEL MODELO OPERANTE: ASPECTOS PARAMÉTRICOS

El principal objetivo de esta tesis doctoral fue conocer si ratas infantas predestetadas eran capaces de aprender del contexto donde ocurría el condicionamiento operante y su extinción, entendiendo a este último proceso como un nuevo aprendizaje altamente dependiente del contexto. Para ello, se adaptó una técnica de autoadministración operante que ha sido utilizada principalmente para los estudios de autoadministración de etanol en ratas infantas (Miranda-Morales et al., 2010, 2012).

Los primeros experimentos realizados en el presente trabajo permitieron identificar que el uso de leche chocolatada, administrada en un volumen de 6 μ l por pulso, actuaba como un reforzador altamente efectivo para instalar la respuesta operante. Asimismo, estos experimentos fueron importantes para demostrar que era necesario un tiempo de separación materna, superior a 30 minutos (Experimento 1), para facilitar la búsqueda y el consumo del reforzador. Como pudo observarse en el Experimento 2, la curva de adquisición de la respuesta operante resultó evidente cuando se emplearon 3 horas de separación materna. Posteriormente, se incorporaron nuevas modificaciones que llevaron a reducir el tiempo de separación materna a 2 horas (Experimento 3).

En el Experimento 2 también se exploró el efecto de incorporar un día más de condicionamiento, con el fin de afianzar el aprendizaje. Pudo apreciarse en este experimento que, empleando leche chocolatada como reforzador, el número de respuestas operantes ejecutadas por los animales emparejados el DP17 resultó ser significativamente elevada, no sólo con respecto a sus controles en este momento del entrenamiento, sino en relación a los días previos. Sin embargo, al momento de la prueba, no pudo detectarse la recuperación de la respuesta entre los animales del grupo emparejado. Se decidió entonces incrementar las sesiones de condicionamiento por día, por lo que se incluyeron dos sesiones diarias para un condicionamiento que iniciaba el DP14 y se extendía hasta el DP17.

Los bajos niveles de respuesta de los animales emparejados durante los DP14 y 15, los cuales no difirieron de los controles, se replicaron en los tres primeros experimentos. Por ese motivo, en el Experimento 4 se decidió excluir los primeros días de condicionamiento, destinando únicamente los DP16 y DP17 para el entrenamiento, manteniendo dos sesiones diarias de condicionamiento, precedidas siempre por 2 horas de separación materna.

Estos cambios no solo beneficiaron la adquisición del aprendizaje, que se reflejó en un aumento en el número de respuestas entre los animales emparejados, que difirió de los controles, particularmente durante el segundo día de entrenamiento, sino que también repercutió sobre la fase de extinción posterior. En esta oportunidad pudo observarse, por primera vez, una diferencia entre los animales emparejados y sus controles al momento de la prueba (Bloque 2). Sin embargo, es posible que un esquema ilimitado de autoadministración del reforzador (leche chocolatada), que posibilitaba la ingesta de altos niveles del mismo (cerca de 1 ml en 15 minutos), favoreciera la generación de algún malestar gástrico entre los animales. Se ha demostrado que las ratas infantiles no muestran la actividad de ciertas enzimas en el intestino capaces de metabolizar muchos carbohidratos durante las primeras dos semanas postnatales (Henning, 1987; Henning & Guerin, 1981; Kojima et al., 1998). Además, datos no publicados de otro laboratorio indican que las ratas infantiles adquieren aversión después del consumo de grandes cantidades de sacarosa (comunicación personal del Dr. Truxell, Universidad de Binghamton). Este aprendizaje aversivo puede haberse expresado en la reducción de la respuesta operante durante los primeros minutos de la fase de extinción, impidiendo ver una diferencia en los niveles de respuesta entre los animales emparejados y sus controles. Por lo tanto, y siguiendo esta hipótesis, en el Experimento 4B se limitó la cantidad de pulsos disponibles (20 pulsos máximos por sesión el DP16 y 30 pulsos por sesión del DP17), con el fin de controlar el aspecto aversivo que el consumo ilimitado del reforzador podría producir. Este límite fue efectivo para reducir la varianza dentro del grupo y, lo que es más importante, prevenir la posibilidad de aversión al reforzador. Debido a que los sujetos de todos los grupos consumen igualmente, independientemente de la condición de aprendizaje y contexto, las diferencias en la respuesta operante

durante la prueba no pueden explicarse por las diferencias en la exposición al reforzador.

En este experimento (Experimento 4B) se apreció que los animales del grupo emparejado respondieron más que los controles durante la extinción, pero sigue siendo un efecto sutil, que se pierde en los primeros minutos de la prueba. Con el fin de retrasar la extinción, en el Experimento 4C se incorporó un esquema de reforzamiento de razón fija 3 (RF-3) para el DP17. Este esquema implica que los sujetos tienen que realizar más respuestas para recibir el reforzador. Está ampliamente documentado que este tipo de esquemas de reforzamiento producen una extinción más lenta (Domjan, 2010), lo que permitiría detectar diferencias entre los grupos.

A pesar del cambio en el esquema de reforzamiento, los principales efectos nuevamente se presentaron durante los primeros minutos de la prueba. Sin embargo, estos fueron más claros que los observados en los experimentos previos, siendo estadísticamente significativos en esta oportunidad. Por lo tanto, el control de la ingesta del reforzador, así como un esquema de reforzamiento más exigente (RF-3), permitieron la expresión del fenómeno básico de aprendizaje operante. Como puede apreciarse, el número de respuestas durante la extinción es considerablemente más bajo que los niveles de respuesta ejecutados durante el segundo día de entrenamiento, lo que destaca la importancia del reforzador en el mantenimiento de la respuesta. En ratas adultas, la magnitud de la respuesta operante con reforzadores apetitivos también se reduce notablemente durante la extinción, en comparación con las respuestas durante una fase de adquisición (por ejemplo, Bouton et al., 2011; Todd et al., 2012a, 2012b), sugiriendo que este resultado puede ser un patrón inherente a ciertos tipos de procedimientos que implican condicionamiento operante apetitivo, no necesariamente relacionados con la edad temprana de los sujetos en el presente estudio.

Por otro lado, resulta importante señalar que a partir del Experimento 3 se incorporaron claves olfativas para señalar el contexto. Aunque no se exploró directamente, a partir de los trabajos reportados por Reville y sus colaboradores (Reville et al., 2015; Reville, Molina, et al., 2013; Reville et al., 2016) es posible

suponer que la clave olfativa como aspecto contextual resulta esencial en el proceso de adquisición y recuperación de la respuesta.

Una vez identificadas las características paramétricas, la adquisición de la respuesta operante como su curva de extinción fueron replicadas a lo largo de los experimentos realizados (Experimentos 4B al 8B), brindando consistencia interna al procedimiento empleado. Respecto a la adquisición del aprendizaje, puede observarse un aumento en la cantidad de respuestas entre los animales emparejados, sobre todo a partir del segundo día de condicionamiento. La diferencia entre los animales emparejados y los controles se vuelve evidente en este momento del condicionamiento, lo que nos permite afirmar que el procedimiento es efectivo para instalar la respuesta operante. Asimismo, también fue consistente la recuperación del aprendizaje 24 y 48 horas después del entrenamiento, aunque como se señaló, el nivel de respuesta es significativamente menor al que ocurre durante el condicionamiento, y se presenta principalmente durante los primeros minutos de la prueba. Sin embargo, este efecto resulta lo suficientemente robusto como para reflejar diferencias con respecto a los sujetos del grupo control y para replicarse a lo largo de los distintos experimentos.

2. APRENDIZAJE CONTEXTUAL DURANTE LA FASE DE ADQUISICIÓN

Con el fin de evaluar el aprendizaje contextual durante la fase de adquisición se emplearon dos procedimientos. Uno de ellos fue reportado por Pearce y Hall (1979). En ese trabajo los autores observaron que animales adultos que habían sido condicionados en un paradigma operante, redujeron el nivel de respuesta durante la prueba si previamente habían sido expuestos al contexto de condicionamiento en ausencia del reforzador. Los autores interpretaron esto como evidencia a favor del supuesto de que existe una asociación entre el contexto y el reforzador que regula la expresión de la respuesta operante. De acuerdo con los autores, la exposición no reforzada al contexto, así como la presentación señalizada del reforzador podrían haber debilitado la asociación contexto-reforzador y de este modo afectar la capacidad del contexto de evocar la respuesta operante aprendida bajo esas claves.

Siguiendo estos resultados, en el Experimento 3 del presente trabajo doctoral se puso a prueba la hipótesis de que una exposición no reforzada al contexto, posterior al entrenamiento, reduciría el nivel de respuesta entre los animales del grupo emparejado que atravesaron esta exposición (Grupo EXT) en comparación con los sujetos no expuestos al contexto (Grupo N-EXT). Sin embargo, este efecto no fue evidente. Como se señaló previamente, el protocolo de condicionamiento aún no era lo suficientemente robusto como para instalar el aprendizaje operante, y esto pudo haber perjudicado la expresión del fenómeno.

Una vez que el protocolo de condicionamiento demostró ser efectivo, en el Experimento 5 resultó interesante volver a explorar la hipótesis de que una exposición al contexto reduciría la respuesta de los animales que atravesaron por esta condición. En esta oportunidad, y a diferencia del Experimento 3, todos los grupos fueron expuestos al contexto en ausencia del reforzador. La mitad de ellos permaneció en el mismo contexto de entrenamiento y prueba (Grupo AAA), mientras que el resto fue expuesto en un contexto diferente durante la fase de exposición al contexto (Grupo ABA). Sin embargo, a pesar de las modificaciones, el procedimiento nuevamente no reflejó ningún efecto de la extinción contextual, y sólo se observó un efecto de condición de aprendizaje, siendo los sujetos emparejados de ambos grupos los que respondieron significativamente más que los controles durante el primer bloque.

Otro procedimiento efectivo para reducir la respuesta operante manipulando el contexto consistió en utilizar un contexto diferente al momento de la prueba. La reducción en el número o magnitud de respuesta debido a la evaluación en un contexto diferente al del entrenamiento se conoce como efecto de cambio de contexto y es una forma de conocer si la respuesta aprendida es específica del contexto o puede ser ejecutada independientemente del mismo (Bouton & Todd, 2014; Bouton et al., 2011; Todd et al., 2012a). Empleando el cambio de contexto al momento de la extinción, los datos reportados permiten señalar que existe evidencia a favor del aprendizaje contextual a largo plazo entre ratas infantas pre-destetadas. Esto puede deducirse del cambio en la distribución temporal de la respuesta operante observada durante la fase de extinción del

Experimento 4C. En esta oportunidad, el cambio de contexto entre el entrenamiento y la extinción (PD18) afectó el curso temporal de expresión de la respuesta operante, pero no su magnitud. En el primer bloque, los animales emparejados de la condición AAA respondieron significativamente más que sus controles, mientras que los sujetos emparejados del grupo ABA expresaron niveles bajos de respuesta que no difirieron de sus controles. El número máximo de respuestas de hociqueo mostradas por los sujetos emparejados de la condición ABA ocurrió en el segundo bloque de extinción, momento en el que respondieron más que sus respectivos controles. Estos resultados indican que las ratas pre-destetadas, al igual que los adultos (Bouton & Todd, 2014), fueron capaces de discriminar entre los contextos A y B, y retuvieron la información respecto al contexto en el que aprendieron la respuesta operante, valiéndose de la misma al momento de la extinción. Esta evidencia de memoria de contexto a largo plazo es compatible con hallazgos previos en ratas infantiles pre-destetadas (Anderson & Riccio, 2005; Brassler & Spear, 1998, 2004; Pisano et al., 2012; Pugh & Rudy, 1996; Revillo et al., 2016), así como los datos reportados en infantiles humanos a partir de los 3 meses de edad en las tareas de reconocimiento demorado (Rovee-Collier, 1997; Rovee-Collier & Cuevas, 2009; Rovee-Collier & Giles, 2010).

El efecto de cambio de contexto también se evaluó empleando un intervalo de retención más prolongado (48 horas, Experimento 6). Resulta importante resaltar que el aprendizaje pudo expresarse incluso luego de un período prolongado de retención, indicando que bajo estas condiciones el aprendizaje de la respuesta operante resiste periodos de por lo menos 48 horas. Sin embargo, a diferencia de lo observado a las 24 horas, en este caso no se evidenció el retraso de la respuesta aprendida entre los animales que fueron evaluados en un contexto diferente. Por el contrario, no hubo diferencias significativas en el número y distribución de la respuesta entre los animales emparejados evaluados en un contexto diferente al del entrenamiento (Emparejados-ABA) y los evaluados en el mismo contexto (Emparejados-AAA), aunque se expresaron diferencias en función de la condición de aprendizaje, y los sujetos emparejados respondieron significativamente más que los controles en los primeros minutos de la prueba. Este dato concuerda con la hipótesis planteada por Anderson y Riccio (2005) de

que el olvido es un proceso progresivo que inicia con los atributos del contexto, y que posteriormente afecta la memoria del evento total, generando una reducción de la respuesta, independientemente del contexto de evaluación. En ese sentido, lo que se observa en intervalos intermedios de retención es la generalización del aprendizaje entre diferentes contextos, como pudo observarse en el Experimento 6 del presente trabajo.

3. APRENDIZAJE CONTEXTUAL DURANTE LA FASE DE EXTINCIÓN

En principio, resulta relevante señalar que la extinción es un aprendizaje altamente específico del contexto donde ocurre (Bouton, 2004; Bouton & Todd, 2014), por lo que resulta una instancia clave para estudiar el aprendizaje contextual en la infancia. Por otro lado, también motivó el abordaje de esta fase la hipótesis planteada por el grupo de Kim y Richardson (Kim & Richardson, 2007a, 2007b, 2010), que señala que los mecanismos que regulan este fenómeno durante la infancia difieren de los postulados para la etapa adulta, siendo la inmadurez del hipocampo una de las causas de dicha diferencia, lo que explicaría la imposibilidad de aprender la relación entre las claves del contexto y su relación inhibitoria con el reforzador.

Una forma de estudiar la dependencia contextual de la extinción es a través del efecto de renovación. En el efecto de renovación la respuesta condicionada extinguida se recupera cuando es evaluada en un contexto diferente al empleado durante la fase de extinción. Este efecto ha sido importante para sostener la idea de que la extinción no implica la eliminación de una memoria, sino que se trata de un nuevo aprendizaje, el cual resulta altamente dependiente del contexto donde ocurre (Bouton, 2004).

Como se observó en el Experimento 4C del presente trabajo, la recuperación de la respuesta operante por parte de los animales de 19 días de edad post-natal que atravesaron la fase de extinción en un contexto diferente es una evidencia a favor del aprendizaje de contexto en esta temprana etapa ontogenética. Sólo los animales del grupo emparejado-ABA, cuando fueron evaluados nuevamente en el mismo contexto del entrenamiento, mostraron un incremento en el número de

respuesta operante que fue significativamente mayor a la respuesta de sus respectivos controles. Esta diferencia nuevamente se observó durante el primer bloque de prueba. En el caso de los grupos entrenados y evaluados siempre en el mismo contexto (grupo-AAA), no hubo evidencia de la recuperación de la respuesta ni una diferencia entre animales del grupo emparejado y sus respectivos controles al momento de la prueba de renovación (DP19). Empleando un esquema similar en ratas adultas, Bouton y cols. (2011, Experimento 1) observaron que ratas evaluadas en un contexto diferente al de la extinción respondieron significativamente más que aquellas evaluadas en el mismo contexto. A su vez, empleando un diseño intra-sujeto mostraron que, controlando el orden de presentación, los mismos animales respondían significativamente más cuando eran evaluados en un contexto diferente al de la extinción que cuando se los evaluaba en el mismo contexto de extinción.

Estudios previos en ratas infantiles evidenciaron que los animales destetados eran capaces mostrar renovación de la respuesta extinguida, pero esta recuperación de la respuesta no se observó entre los animales pre-destetados (Kim & Richardson, 2007b; Yap & Richardson, 2007). Estos últimos autores interpretaron sus resultados indicando que la extinción era cualitativamente diferente en crías pre-destetadas y animales más grandes, y que esta diferencia era el resultado del presumiblemente incompleto desarrollo funcional del hipocampo en crías (Kim & Richardson, 2010). Sin embargo, los resultados del Experimento 4C son inconsistentes con esta hipótesis. Por otra parte, el efecto de renovación en ratas pre-destetadas fue previamente reportado en estudios de condicionamiento pavloviano, utilizando protocolos de aversión condicionada al sabor (Revilla, Castello, et al., 2014) y de condicionamiento de miedo (Revilla, Arias, et al., 2013; Revilla et al., 2015). A su vez, en estudios con infantes humanos también se observó la renovación de la respuesta extinguida empleando condicionamiento operante (Cuevas et al., 2016).

Cabe señalar que el efecto de renovación no se observó en el Experimento 6, luego de un intervalo de retención de 48 horas antes de la fase de extinción. Al momento de la prueba, tanto los animales emparejados que atravesaron la

extinción en el mismo contexto de entrenamiento como los que lo hicieron en un contexto diferente mostraron niveles de respuesta similares a los de los grupos control. Esto podría explicarse por el hecho de que los animales no discriminan entre los contextos luego de 48 horas y los tratan como si fueran similares.

Por otro lado, con la intención de continuar investigando el proceso de extinción y su dependencia contextual en ratas infantiles, y luego de haber observado la renovación de la respuesta extinguida, surge el interés de estudiar la recuperación de la respuesta mediante el procedimiento de restablecimiento. Esta exploración arrojó dos efectos interesantes. En primer lugar, los experimentos revelaron que las ratas infantiles pre-destetadas son capaces de recuperar la respuesta operante extinguida cuando se emplea un procedimiento de restablecimiento. En segundo lugar, los resultados del Experimento 8B, apoyan el supuesto de que el restablecimiento depende del contexto durante la infancia, como ocurre en la edad adulta.

En el Experimento 7A se empleó un único contexto para las cuatro fases del procedimiento, a saber, el entrenamiento, extinción, restablecimiento y prueba (diseño AAAA). A pesar de que la curva de adquisición indicó que los animales emparejados aprendieron la tarea operante, mostrando un incremento de la respuesta operante a través de las sesiones de condicionamiento, y que este aprendizaje se expresó durante los dos primeros bloques de extinción, en ausencia del reforzador, no se observó el restablecimiento de la respuesta extinguida en este experimento. Inesperadamente, el número de respuestas en este experimento fue alto para todos los grupos (entre 7 y 9 respuestas operantes durante el primer bloque). Este número de respuestas fue alcanzado por la mayoría de los sujetos independientemente del grupo al que pertenecían, incluidos sus controles, y fue mayor que el número de respuestas emitidas por estos grupos al final de la sesión de extinción realizada el día anterior. Asimismo, el número de respuestas durante el primer bloque de prueba en el Experimento 7A fue similar al número de respuestas alcanzadas en este bloque por grupos que mostraron el efecto de restablecimiento en los experimentos 7B y 8B. De hecho, en estos experimentos los controles respondieron a una tasa muy baja al comienzo de la fase de prueba. Por

lo tanto, es posible que en el Experimento 7A no se observe la recuperación de la extinción debido al alto nivel de respuesta de los controles y a un probable efecto techo entre los animales de los grupos emparejados. Creemos que esto resalta la importancia de incluir controles tipo yoked en este procedimiento. Sin este tipo de control se podría haber concluido, en base a comparaciones intra-grupo entre el primer bloque de prueba y el último bloque de extinción, que la respuesta extinguida se recuperó después de la sesión de extinción (recuperación espontánea), pero que el recordatorio no fue efectivo para restablecer la respuesta.

En los Experimentos 7B y 8B no observamos la recuperación espontánea en el grupo emparejado-no restablecido, y la respuesta extinguida solo se recuperó mediante un recordatorio entre la extinción y las sesiones de prueba. La principal diferencia entre los protocolos de estos experimentos y los del Experimento 7A fue que en los Experimentos 7B y 8B, se implementó el cambio de contexto entre el condicionamiento y la extinción, un procedimiento utilizado previamente por Revillo et al. (2016). La justificación dada por estos autores fue que este procedimiento facilitó la observación del condicionamiento pavloviano y, en su estudio, también permitió detectar el restablecimiento con un tratamiento de condicionamiento relativamente débil. Como ya se mencionó, la respuesta operante que estamos midiendo en el presente estudio se extingue rápidamente y la magnitud de la respuesta es muy baja durante las pruebas en comparación con los niveles de respuesta durante la fase de adquisición, y desde este punto de vista también se puede considerar "débil". Por lo tanto, es posible pensar que el tratamiento de cambio de contexto entre el condicionamiento y la extinción puede de alguna manera facilitar la observación de algunos efectos de aprendizaje y extinción cuando la magnitud de la respuesta es relativamente baja, al menos en animales jóvenes. No sabemos si este efecto es exclusivo de este período ontogenético ya que no se ha observado en ningún otro estudio con ratas adultas, y no tenemos una explicación teórica para ello. La recuperación de la respuesta extinguida se produjo en un contexto que nunca se asoció con el refuerzo de la respuesta operante (Experimento 7B y 8B, ABBB), y no en el contexto en el que se entrenó (Experimento 7A, AAAA). Hasta donde sabemos, las teorías asociativas predecirían que en el diseño ABBB, el contexto B tendría más fuerza inhibitoria

que el contexto A en el diseño AAAA. Por ejemplo, a partir de los resultados de experimentos realizados con ratas adultas, Bouton y su equipo (Bouton, Trask, & Carranza-Jasso, 2016; Todd, 2013; Todd et al., 2014; Trask, Thraillkill, & Bouton, 2017) concluyeron que, durante la extinción de una respuesta operante, los sujetos aprendieron a formar un vínculo inhibitorio entre el contexto y el comportamiento. La única explicación que podemos sugerir es que el cambio de contexto afectó el comportamiento de los sujetos de control. Al menos descriptivamente, en nuestros experimentos, este tratamiento de contexto se correlacionó con un número menor de respuestas entre los controles, y esto nos permitió detectar los efectos de restablecimiento en los Experimentos 7B y 8B.

Estos resultados de restablecimiento de la respuesta extinguida, junto con la renovación de la respuesta, fortalecen la hipótesis de que la extinción durante la infancia no se debe a un mecanismo diferente al de la adultez, y muestra fenómenos similares al de esta etapa ontogenética. Sin embargo, como se indicó, algunos autores defienden el supuesto de que la extinción puede deberse a un "desaprendizaje" de la memoria original en estas edades tempranas (Kim & Richardson, 2007a, 2007b; Park, Ganella, & Kim, 2017). En un artículo Park y sus colegas (2017) fracasaron una vez más en observar la renovación de la respuesta de miedo en animales de 18 días de edad (PD18). Sin embargo, descartaron que este efecto se deba a la incapacidad de formar una memoria contextual durante la extinción. En los experimentos 2A, 2B y 3, los autores reportaron el aprendizaje contextual a esta edad. Postularon que el destete es un factor importante para facilitar el aprendizaje contextual, posiblemente debido a la aceleración de la maduración del hipocampo. Por lo tanto, para estos autores la imposibilidad de recuperar la respuesta extinguida en animales jóvenes se debe a un borrado de la memoria original, y se limita al aprendizaje asociativo miedo.

Sin embargo, Reville y sus colegas, utilizando diferentes procedimientos que incluyen, además del condicionamiento de miedo, el aprendizaje de aversión condicionada al sabor, y diferentes efectos (renovación, restablecimiento y recuperación espontánea), reportan recuperación de la respuesta extinguida en animales infantiles (Reville, Castello, et al., 2014; Reville, Molina, et al., 2013;

Revilla, Paglini, et al., 2014; Revillo et al., 2016). Junto con los experimentos reportados en este trabajo, usando un paradigma diferente de condicionamiento (condicionamiento operante), estos resultados pueden ser considerados como evidencia a favor del supuesto de que la extinción en ratas pre-destetadas no es un borrado del aprendizaje original, sino un mecanismo más general basado en la adquisición de un nuevo aprendizaje, como se acepta ampliamente en ratas adultas (Bouton, 2002, 2004) que afecta a diferentes tipos de aprendizaje y especies (Cuevas et al., 2016; Orellana Barrera, Arias, Gonzalez, & Abate, 2017).

Luego de observar el efecto de restablecimiento en nuestra preparación experimental, surge el interés por explorar la dependencia contextual del restablecimiento (Bouton, 2002). En un paradigma de condicionamiento operante con ratas adultas, Baker et al. (1991) demostraron que las exposiciones no reforzadas al contexto después de la fase de restablecimiento redujeron la recuperación de la respuesta durante la prueba (Experimento 2). Además, entrenaron a los animales en dos contextos diferentes y luego extinguieron la respuesta en ambos. Después de eso, el restablecimiento se ejecutó sólo en uno de ellos. Los autores observaron que la respuesta fue mayor en el contexto en el que se suministró el reforzador (Experimento 3). Estos resultados muestran que al menos parte del efecto de restablecimiento se debe al condicionamiento contextual. Resultados similares se observaron usando preparaciones pavlovianas (Bouton & Bolles, 1979; Bouton & King, 1983; Bouton & Peck, 1989), donde un cambio de contexto entre el restablecimiento y las pruebas produjo una reducción de la recuperación de la respuesta aprendida.

Con ese objetivo se llevaron a cabo los Experimentos 8A y 8B. En el primer caso se estudió la exposición no reforzada al contexto. Sin embargo nuevamente este procedimiento no tuvo efecto sobre la respuesta. En este caso tanto los animales del grupo emparejado que atravesaron por el procedimiento de exposición al contexto como los que no lo hicieron mostraron altos niveles de respuesta. Resulta interesante observar que el nivel de respuesta de los animales control del grupo expuesto al contexto también resultó alto si se tiene en cuenta el nivel de respuesta que los controles realizan en otros experimentos.

En el Experimento 8B, la respuesta operante extinguida se recuperó cuando se probó en el mismo contexto en el que se suministró el reforzador. Cuando el recordatorio fue presentado en el contexto C y luego se evaluó el restablecimiento en el contexto B, el nivel de respuesta operante fue bajo, y no difirió de los animales control. La dependencia contextual del efecto de restablecimiento nunca fue explorada en la infancia antes de este trabajo. Los resultados presentados aquí deben ser considerados junto con las evidencias reportadas anteriormente de aprendizaje contextual. Estudios previos han señalado que las ratas infantiles son incapaces de consolidar recuerdos contextuales a largo plazo (Rudy, 1993; Rudy & Morledge, 1994; Schiffino et al., 2011). Sin embargo, como se demostró en este trabajo, estos animales no sólo aprenden sobre el contexto durante la fase adquisición de la respuesta operante y del contexto de extinción, sino que también necesitan este aprendizaje para expresar el restablecimiento de la respuesta extinguida, como se reflejó en el Experimento 8B.

4. UNA APROXIMACIÓN DESDE EL MODELO ECOLÓGICO

Los resultados presentados en este estudio aparecen como evidencia a favor de las capacidades de memoria comúnmente negadas durante las etapas infantiles, como es el caso del aprendizaje contextual. No sólo se aporta evidencia respecto a la regulación del aprendizaje contextual en el paradigma de condicionamiento operante (Bouton & Todd, 2014), sino que demuestran que esta regulación también puede observarse durante la infancia, indicando que el aprendizaje durante la infancia es similar al reportado en la adultez. Por otro lado, la recuperación de la respuesta operante extinguida evidenciada tanto a través del efecto de renovación-ABA como mediante el efecto de restablecimiento implica que la extinción durante la infancia no es sinónimo de olvido, sino que puede ser pensada como un nuevo aprendizaje que coexiste con el original. Asimismo, los resultados muestran que las ratas pre-destetadas pueden aprender sobre su contexto, incluso durante la fase de restablecimiento, donde este aprendizaje resulta esencial para recuperar la memoria original. Tomados en conjunto, estos resultados pueden ser interpretados como evidencia a favor de que las crías no son organismos inmaduros e incapaces de aprender de su contexto.

Norman Spear y Carolyn Rovee-Collier propusieron un punto de vista alternativo que podría ayudar a conciliar estos hallazgos aparentemente contradictorios, y al que se hace referencia como el "modelo ecológico" (Rovee-Collier & Cuevas, 2009; N. E. Spear, 1984). Este marco teórico propone que las capacidades de aprendizaje y retención infantil no pueden ser consideradas más pobres o más débiles que las de los organismos adultos. Más bien, estas capacidades permiten a las crías responder de manera adaptativa a su entorno en cada etapa ontogenética (Rovee-Collier & Cuevas, 2009; N. E. Spear, 1984). Este modelo es relevante para la presente discusión porque enfatiza la importancia de adaptar las tareas de aprendizaje a las capacidades motivacionales, sensoriales y motoras de los sujetos para explorar con precisión sus capacidades cognitivas. Cambios sutiles en los parámetros experimentales pueden conducir a diferencias importantes en el rendimiento, particularmente en las etapas tempranas del desarrollo durante las cuales ocurren rápidos cambios maduracionales. Por ejemplo, el contenido sensorial del contexto parece ser crítico para algunos efectos de contexto durante la infancia, facilitando no sólo el condicionamiento contextual (Brasser & Spear, 2004; Pugh & Rudy, 1996), sino también los efectos de interferencia (Revilla, Gaztanaga, et al., 2014; Revilla et al., 2016). Curiosamente, este y otros estudios que demuestran la renovación y el restablecimiento en ratas antes del destete incluyeron olores destacados en el contexto de la prueba (Revilla, Castello, et al., 2014; Revilla et al., 2015; Revilla, Molina, et al., 2013; Revilla et al., 2016). Por el contrario, los estudios que no observaron estos efectos durante la infancia no enriquecieron los contextos con olores y generalmente emplearon contextos poco sobresalientes, como cajas con paredes transparentes (Kim & Richardson, 2007a, 2007b; Rudy, 1993, 1994; Rudy & Morledge, 1994; Yap & Richardson, 2007). Comparar el desempeño de ratas pre-destetadas y destetadas en tareas de aprendizaje dependientes del contexto utilizando contextos sin señales de olor puede conducir a la interpretación de diferencias ontogenéticas en términos de mecanismos de memoria, cuando puede reflejar diferencias ontogénicas en las capacidades sensoriales (Brasser & Spear, 2004). Siguiendo esta lógica, es importante explorar cuáles son las condiciones que pueden favorecer los efectos específicos del aprendizaje al analizarlos ontogenéticamente.

A partir de los datos que sugieren que la extinción no es dependiente del contexto e implica un desaprendizaje en ratas infantiles, se ha inferido que las terapias de exposición para los desórdenes de ansiedad serían más eficaces en niños jóvenes porque pueden ser menos susceptibles a la recaída (Kim & Richardson, 2010). Sin embargo, nuestros resultados, así como otros obtenidos en ratas pre-destetadas (Revilla, Molina, et al., 2013; Revilla, Paglini, et al., 2014; Revilla et al., 2016) o en bebés humanos (Cuevas et al., 2016) no se ajustan a esta hipótesis. La evidencia de que la extinción es específica del contexto incluso en la infancia temprana subraya el papel significativo del contexto como un factor potencial en la eliminación de comportamientos indeseables (Cuevas et al., 2016), e incita a una reevaluación del supuesto de que los infantiles son incapaces de retener el aprendizaje del contexto debido a la inmadurez funcional del hipocampo. En conjunto, los experimentos presentados en este trabajo, junto con otros informes en la literatura, sostienen que el aprendizaje del contexto y la retención puede ocurrir entre las ratas pre-destetadas y que, durante la infancia, el contexto modula el aprendizaje de interferencia de manera similar que en la adultez.

En resumen, los resultados obtenidos a lo largo de los experimentos reportados dan cuenta, en primer lugar, de que el procedimiento de condicionamiento resulta efectivo para instalar la respuesta operante y permitir que esta se exprese, en ausencia del reforzador, hasta 48 horas después del entrenamiento. A su vez, los procedimientos de exposición al contexto no parecen ser efectivos para reducir el aprendizaje de contexto, mientras que la estrategia de cambiar el contexto entre el entrenamiento y la prueba demuestra un claro efecto sobre la respuesta. Asimismo, resulta interesante observar que este efecto de cambio de contexto se pierde a las 48 horas de retención, mostrando un aumento en la generalización del aprendizaje. Respecto a la extinción es relevante señalar que fue posible observar la renovación de la respuesta extinguida entre los animales extinguidos en un contexto diferente. El restablecimiento de la respuesta extinguida refuerza el resultado obtenido en el experimento de renovación y fortalece la hipótesis de que la extinción durante la infancia no es un proceso diferente al de la adultez. Finalmente, los datos del último experimento revelan

que el aprendizaje contextual es necesario para el restablecimiento de la respuesta extinguida. Estos resultados concuerdan con la perspectiva ecológica del desarrollo que propone que los miembros de todas las especies están perfectamente adaptados a su nicho ecológico, en cada punto de la ontogenia y presentan soluciones efectivas y evolutivamente seleccionadas a los desafíos que plantea cada nuevo nicho. Debido a que los adultos y los niños ocupan diferentes nichos, lo que perciben, aprenden y recuerdan sobre el mismo evento difiere, pero no su capacidad para aprender y recordar (Rovee-Collier & Cuevas, 2009; N. E. Spear, 1984). Este último punto es muy importante si queremos diseñar estrategias para tratar problemas clínicos durante la infancia o utilizar esta temprana etapa del desarrollo como abordaje preventivo para evitar manifestaciones patológicas durante la adultez.

REFERENCIAS

- Anderson, M. J., & Riccio, D. C. (2005). Ontogenetic forgetting of stimulus attributes. *Learn Behav*, 33(4), 444-453.
- Arias, C., Spear, N. E., Molina, J. C., & Molina, A. (2007). Rapid acquisition of operant conditioning in 5-day-old rat pups: a new technique articulating suckling-related motor activity and milk reinforcement. *Dev Psychobiol*, 49(6), 576-588. doi: 10.1002/dev.20236
- Baker, A. G., Steinwald, H., & Bouton, M. E. (1991). Contextual conditioning and reinstatement of extinguished instrumental conditioning. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 43B, 199-218.
- Bauer, P. J. (2006). Constructing a past in infancy: a neuro-developmental account. *Trends Cogn Sci*, 10(4), 175-181. doi: 10.1016/j.tics.2006.02.009
- Bauer, P. J. (2008). Toward a neuro-developmental account of the development of declarative memory. *Dev Psychobiol*, 50(1), 19-31. doi: 10.1002/dev.20265
- Bordner, K. A., Molina, J. C., & Spear, N. E. (2008). Analysis of ethanol reinforcement in 1-day-old rats: assessment through a brief and novel operant procedure. *Alcohol Clin Exp Res*, 32(4), 580-592. doi: ACER609 [pii]
10.1111/j.1530-0277.2007.00609.x
- Bouton, M. E. (1993). Context, time, and memory retrieval in the interference paradigms of Pavlovian learning. *Psychol Bull*, 114(1), 80-99.
- Bouton, M. E. (2002). Context, ambiguity, and unlearning: sources of relapse after behavioral extinction. *Biol Psychiatry*, 52(10), 976-986. doi: S0006322302015469 [pii]
- Bouton, M. E. (2004). Context and behavioral processes in extinction. *Learn Mem*, 11(5), 485-494. doi: 11/5/485 [pii]
10.1101/lm.78804
- Bouton, M. E., & Bolles, R. C. (1979). Role of conditioned contextual stimuli in reinstatement of extinguished fear. *J Exp Psychol Anim Behav Process*, 5(4), 368-378.
- Bouton, M. E., & King, D. A. (1983). Contextual control of the extinction of conditioned fear: tests for the associative value of the context. *J Exp Psychol Anim Behav Process*, 9(3), 248-265.
- Bouton, M. E., & Peck, C. A. (1989). Context effects on conditioning, extinction, and reinstatement in an appetitive conditioning preparation. *Animal Learning & Behavior*, 17(2), 188-198. doi: 10.3758/BF03207634
- Bouton, M. E., & Todd, T. P. (2014). A fundamental role for context in instrumental learning and extinction. *Behav Processes*, 104, 13-19. doi: S0376-6357(14)00048-5 [pii]
10.1016/j.beproc.2014.02.012

- Bouton, M. E., Todd, T. P., Vurbic, D., & Winterbauer, N. E. (2011). Renewal after the extinction of free operant behavior. *Learn Behav*, *39*(1), 57-67. doi: 10.3758/s13420-011-0018-6
- Bouton, M. E., Trask, S., & Carranza-Jasso, R. (2016). Learning to inhibit the response during instrumental (operant) extinction. *J Exp Psychol Anim Learn Cogn*, *42*(3), 246-258. doi: 10.1037/xan0000102
- Brasser, S. M., & Spear, N. E. (1998). A sensory-enhanced context facilitates learning and multiple measures of unconditioned stimulus processing in the preweanling rat. *Behav Neurosci*, *112*(1), 126-140.
- Brasser, S. M., & Spear, N. E. (2004). Contextual conditioning in infants, but not older animals, is facilitated by CS conditioning. *Neurobiol Learn Mem*, *81*(1), 46-59. doi: S1074742703000686 [pii]
- Broadwater, M., & Spear, L. P. (2013). Consequences of ethanol exposure on cued and contextual fear conditioning and extinction differ depending on timing of exposure during adolescence or adulthood. *Behav Brain Res*, *256*, 10-19. doi: 10.1016/j.bbr.2013.08.013
- Burman, M. A., Erickson, K. J., Deal, A. L., & Jacobson, R. E. (2014). Contextual and auditory fear conditioning continue to emerge during the periweaning period in rats. *PLoS One*, *9*(6), e100807. doi: 10.1371/journal.pone.0100807
- Carew, M. B., & Rudy, J. W. (1991). Multiple functions of context during conditioning: a developmental analysis. *Dev Psychobiol*, *24*(3), 191-209. doi: 10.1002/dev.420240305
- Carver, L. J., & Bauer, P. J. (2001). The dawning of a past: the emergence of long-term explicit memory in infancy. *J Exp Psychol Gen*, *130*(4), 726-745.
- Castellucci, V., & Kandel, E. R. (1976). Presynaptic facilitation as a mechanism for behavioral sensitization in *Aplysia*. *Science*, *194*(4270), 1176-1178.
- Cohen, N. J., & Squire, L. R. (1980). Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science*, *210*(4466), 207-210.
- Corkin, S. (2002). What's new with the amnesic patient H.M.? *Nat Rev Neurosci*, *3*(2), 153-160. doi: 10.1038/nrn726
- Cuevas, K., Learmonth, A. E., & Rovee-Collier, C. (2016). A dissociation between recognition and reactivation: The renewal effect at 3 months of age. *Dev Psychobiol*, *52*(2), 159-175. doi: 10.1002/dev.21357
- Chen, J. S., & Amsel, A. (1980a). Learned persistence at 11-12 days but not at 10-11 days in infant rats. *Dev Psychobiol*, *13*(5), 481-491. doi: 10.1002/dev.420130506
- Chen, J. S., & Amsel, A. (1980b). Retention under changed-reward conditions of persistence learned by infant rats. *Dev Psychobiol*, *13*(5), 469-480. doi: 10.1002/dev.420130505
- Dominguez, H. D., Bocco, G., Chotro, M. G., Spear, N. E., & Molina, J. C. (1993). Operant responding controlled by milk or milk contaminated with alcohol as positive reinforcers in infant rats. *Pharmacol Biochem Behav*, *44*(2), 403-409. doi: 0091-3057(93)90482-9 [pii]

- Dominguez, H. D., Lopez, M. F., & Molina, J. C. (1998). Neonatal responsiveness to alcohol odor and infant alcohol intake as a function of alcohol experience during late gestation. *Alcohol, 16*(2), 109-117. doi: S0741-8329(97)00169-9 [pii]
- Domjan, M. (2010). *Principios de aprendizaje y conducta* (6ta ed.): Cengage Learning.
- Esmoris-Arranz, F. J., Mendez, C., & Spear, N. E. (2008). Contextual fear conditioning differs for infant, adolescent, and adult rats. *Behav Processes, 78*(3), 340-350. doi: S0376-6357(08)00012-0 [pii]
- 10.1016/j.beproc.2008.01.010
- Fanselow, M. S. (2000). Contextual fear, gestalt memories, and the hippocampus. *Behav Brain Res, 110*(1-2), 73-81.
- Gardner, L. E. (1968). Retention and overhabituation of a dual-component response in *Lumbricus terrestris*. *J Comp Physiol Psychol, 66*(2), 315-318.
- Hayne, H. (2004). Infant memory development: Implications for childhood amnesia. *Developmental Review, 24*, 33-73.
- Henning, S. J. (1987). Functional development of the gastrointestinal tract. In L. R. Johnson (Ed.), *Physiology of the gastrointestinal tract*. New York: Raven Press.
- Henning, S. J., & Guerin, D. M. (1981). Role of diet in the determination of jejunal sucrase activity in the weanling rat. *Pediatr Res, 15*(7), 1068-1072. doi: 10.1203/00006450-198107000-00019
- Holson, R. R., & Pearce, B. (1992). Principles and pitfalls in the analysis of prenatal treatment effects in multiparous species. *Neurotoxicol Teratol, 14*(3), 221-228. doi: 0892-0362(92)90020-B [pii]
- Jablonski, S. A., Schiffino, F. L., & Stanton, M. E. (2012). Role of age, post-training consolidation, and conjunctive associations in the ontogeny of the context preexposure facilitation effect. *Dev Psychobiol, 54*(7), 714-722. doi: 10.1002/dev.20621
- Jackson, J. H. (1884). The Croonian Lectures on Evolution and Dissolution of the Nervous System. *Br Med J, 1*(1215), 703-707.
- Ji, J., & Maren, S. (2007). Hippocampal involvement in contextual modulation of fear extinction. *Hippocampus, 17*(9), 749-758. doi: 10.1002/hipo.20331
- Johanson, I. B., & Hall, W. G. (1979). Appetitive learning in 1-day-old rat pups. *Science, 205*(4404), 419-421.
- Kim, J. H., & Richardson, R. (2007a). A developmental dissociation in reinstatement of an extinguished fear response in rats. *Neurobiol Learn Mem, 88*(1), 48-57. doi: 10.1016/j.nlm.2007.03.004
- Kim, J. H., & Richardson, R. (2007b). A developmental dissociation of context and GABA effects on extinguished fear in rats. *Behav Neurosci, 121*(1), 131-139. doi: 10.1037/0735-7044.121.1.131

- Kim, J. H., & Richardson, R. (2010). New findings on extinction of conditioned fear early in development: theoretical and clinical implications. *Biol Psychiatry*, *67*(4), 297-303. doi: S0006-3223(09)01055-5 [pii]
- 10.1016/j.biopsych.2009.09.003
- Kojima, T., Nishimura, M., Yajima, T., Kuwata, T., Suzuki, Y., Goda, T., . . . Harada, E. (1998). Effect of intermittent feeding on the development of disaccharidase activities in artificially reared rat pups. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, *121*(3), 289-297.
- Lariviere, N. A., Chen, J. W., & Spear, N. E. (1990). The influence of olfactory context on Pavlovian conditioning and its expression in preweanling (16-day-old) and adult rats. *Animal learning & Behavior*, *18*, 179-190.
- Leaton, R. N. (1974). Long-term retention of the habituation of lick suppression in rats. *J Comp Physiol Psychol*, *87*(6), 1157-1164.
- Lopez, M. F., & Becker, H. C. (2014). Operant ethanol self-administration in ethanol dependent mice. *Alcohol*, *48*(3), 295-299. doi: 10.1016/j.alcohol.2014.02.002
- McKinzie, D. L., & Spear, N. E. (1995). Ontogenetic differences in conditioning to context and CS as a function of context saliency and CS-US interval. *Animal learning & Behavior*, *23*, 304-313.
- Miranda-Morales, R. S., Molina, J. C., Spear, N. E., & Abate, P. (2010). Participation of the endogenous opioid system in the acquisition of a prenatal ethanol-related memory: effects on neonatal and preweanling responsiveness to ethanol. *Physiol Behav*, *101*(1), 153-160. doi: S0031-9384(10)00191-5 [pii]
- 10.1016/j.physbeh.2010.04.033
- Miranda-Morales, R. S., Molina, J. C., Spear, N. E., & Abate, P. (2012). Naloxone attenuation of ethanol-reinforced operant responding in infant rats in a re-exposure paradigm. *Psychopharmacology (Berl)*, *219*(1), 235-246. doi: 10.1007/s00213-011-2402-5
- Mishkin, M., Spiegler, B. J., Saunders, R. C., & Malamut, B. J. (1982). An animal model of global amnesia. In S. Corkin, K. L. Davis, J. H. Growdon, E. J. Usdin & R. J. Wurtman (Eds.), *Toward a treatment of Alzheimer's disease*. New York: Raven Press.
- Molina, J. C., Ponce, L. F., Truxell, E., & Spear, N. E. (2006). Infantile sensitivity to ethanol's motivational effects: Ethanol reinforcement during the third postnatal week. *Alcohol Clin Exp Res*, *30*(9), 1506-1519. doi: ACER182 [pii]
- 10.1111/j.1530-0277.2006.00182.x
- Mullally, S. L., & Maguire, E. A. (2014). Learning to remember: the early ontogeny of episodic memory. *Dev Cogn Neurosci*, *9*, 12-29. doi: 10.1016/j.dcn.2013.12.006
- Nelson, C. A. (1997). The neurobiological basis of early memory development. In N. Cowan (Ed.), *The Development of Memory in Childhood*. Hove, East Sussex: Psychology Press.
- Nelson, C. A. (2000). Neural plasticity and human development: The role of early experience in sculpting memory systems *Developmental Science*, *3*, 115-136.

- Orellana Barrera, E., Arias, C., Gonzalez, F., & Abate, P. (2017). Context-dependent extinction of an appetitive operant conditioned response in infant rats. *Dev Psychobiol*, *59*(3), 348-356. doi: 10.1002/dev.21499
- Park, C. H. J., Ganella, D. E., & Kim, J. H. (2017). A dissociation between renewal and contextual fear conditioning in juvenile rats. *Dev Psychobiol*, *59*(4), 515-522. doi: 10.1002/dev.21516
- Pautassi, R. M., Miranda-Morales, R. S., & Nizhnikov, M. (2015). Operant self-administration of ethanol in infant rats. *Physiol Behav*, *148*, 87-99. doi: S0031-9384(14)00448-X [pii]
10.1016/j.physbeh.2014.08.002
- Pautassi, R. M., Truxell, E., Molina, J. C., & Spear, N. E. (2008). Motivational effects of intraorally-infused ethanol in rat pups in an operant self-administration task. *Physiol Behav*, *93*(1-2), 118-129. doi: 10.1016/j.physbeh.2007.08.004
- Pearce, J. M., & Hall, G. (1979). The influence of context-reinforcer associations on instrumental performance. *Animal Learning & Behavior*, *7*, 504-508.
- Pepino, M. Y., Kraebel, K. S., Lopez, M. F., Spear, N. E., & Molina, J. C. (1998). Behavioral detection of low concentrations of ethanol in milk in the preweanling rat. *Alcohol*, *15*(4), 337-353. doi: S0741832997001547 [pii]
- Pepino, M. Y., Lopez, M. F., Spear, N. E., & Molina, J. C. (1999). Infant rats respond differently to alcohol after nursing from an alcohol-intoxicated dam. *Alcohol*, *18*(2-3), 189-201.
- Pisano, M. V., Ferreras, S., Krapacher, F. A., Paglini, G., & Arias, C. (2012). Re-examining the ontogeny of the context preexposure facilitation effect in the rat through multiple dependent variables. *Behav Brain Res*, *233*(1), 176-190. doi: S0166-4328(12)00291-4 [pii]
10.1016/j.bbr.2012.04.030
- Ponce, L. F., Pautassi, R. M., Spear, N. E., & Molina, J. C. (2008). Ethanol-mediated operant learning in the infant rat leads to increased ethanol intake during adolescence. *Pharmacol Biochem Behav*, *90*(4), 640-650. doi: S0091-3057(08)00171-8 [pii]
10.1016/j.pbb.2008.05.007
- Poulos, A. M., Reger, M., Mehta, N., Zhuravka, I., Sterlace, S. S., Gannam, C., . . . Fanselow, M. S. (2014). Amnesia for early life stress does not preclude the adult development of posttraumatic stress disorder symptoms in rats. *Biol Psychiatry*, *76*(4), 306-314. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.10.007
- Pugh, C. R., & Rudy, J. W. (1996). A developmental analysis of contextual fear conditioning. *Dev Psychobiol*, *29*(2), 87-100. doi: 10.1002/(SICI)1098-2302(199603)29:2<87::AID-DEV1>3.0.CO;2-H [pii]
10.1002/(SICI)1098-2302(199603)29:2<87::AID-DEV1>3.0.CO;2-H
- Raineki, C., Holman, P. J., Debiec, J., Bugg, M., Beasley, A., & Sullivan, R. M. (2010). Functional emergence of the hippocampus in context fear learning in infant rats. *Hippocampus*, *20*(9), 1037-1046. doi: 10.1002/hipo.20702

- Rescorla, R. A., & Wagner, A. W. (1972). A theory of Pavlovian conditioning: Variations in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement. In A. H. Black & W. F. Prokasy (Eds.), *Classical Conditioning II: Current Research and Theory* (pp. 64-99): Appleton-Century-Crofts.
- Revillo, D. A., Arias, C., & Spear, N. E. (2013). The unconditioned stimulus pre-exposure effect in preweanling rats in taste aversion learning: role of the training context and injection cues. *Dev Psychobiol*, *55*(2), 193-204. doi: 10.1002/dev.21011
- Revillo, D. A., Castello, S., Paglini, G., & Arias, C. (2014). Reacquisition, reinstatement, and renewal of a conditioned taste aversion in preweanling rats. *Dev Psychobiol*, *56*(4), 713-725. doi: 10.1002/dev.21140
- Revillo, D. A., Cotella, E., Paglini, M. G., & Arias, C. (2015). Contextual learning and context effects during infancy: 30years of controversial research revisited. *Physiol Behav*. doi: S0031-9384(15)00076-1 [pii]
10.1016/j.physbeh.2015.02.012
- Revillo, D. A., Gaztanaga, M., Aranda, E., Paglini, M. G., Chotro, M. G., & Arias, C. (2014). Context-dependent latent inhibition in preweanling rats. *Dev Psychobiol*, *56*(7), 1507-1517. doi: 10.1002/dev.21236
- Revillo, D. A., Molina, J. C., Paglini, M. G., & Arias, C. (2013). A sensory-enhanced context allows renewal of an extinguished fear response in the infant rat. *Behav Brain Res*, *253*, 173-177. doi: S0166-4328(13)00426-9 [pii]
10.1016/j.bbr.2013.07.027
- Revillo, D. A., Paglini, M. G., & Arias, C. (2014). Spontaneous recovery from extinction in the infant rat. *Behav Brain Res*, *274*, 149-157. doi: S0166-4328(14)00521-X [pii]
10.1016/j.bbr.2014.08.009
- Revillo, D. A., Trebucq, G., Paglini, M. G., & Arias, C. (2016). Reinstatement of an extinguished fear conditioned response in infant rats. *Learn Mem*, *23*(1), 1-8. doi: 10.1101/lm.038919.115
- Riccio, D. C., & Joynes, R. L. (2007). Forgetting of stimulus attributes: some implications for hippocampal models of memory. *Learn Mem*, *14*(6), 430-432. doi: 10.1101/lm.617107
- Richardson, R., Riccio, D. C., & Axiotis, R. (1986). Alleviation of infantile amnesia in rats by internal and external contextual cues. *Dev Psychobiol*, *19*(5), 453-462. doi: 10.1002/dev.420190506
- Richardson, R., Riccio, D. C., & Jonke, T. (1983). Alleviation of infantile amnesia in rats by means of a pharmacological contextual state. *Dev Psychobiol*, *16*(6), 511-518. doi: 10.1002/dev.420160607
- Richardson, R., Riccio, D. C., & McKenney, M. (1988). Stimulus attributes of reactivated memory: alleviation of ontogenetic forgetting in rats is context specific. *Dev Psychobiol*, *21*(2), 135-143. doi: 10.1002/dev.420210203
- Richmond, J., & Nelson, C. A. (2007). Accounting for change in declarative memory: A cognitive neuroscience perspective. *Dev Rev*, *27*(3), 349-373. doi: 10.1016/j.dr.2007.04.002

- Rovee-Collier, C. (1997). Dissociations in infant memory: rethinking the development of implicit and explicit memory. *Psychol Rev*, *104*(3), 467-498.
- Rovee-Collier, C. (1999). The development of infant memory. *Current directions in psychological science*, *8*(3), 80-85.
- Rovee-Collier, C., & Barr, R. (2010). Infant Learning and Memory. In J. Gavin Bremner & T. D. Wachs (Eds.), *The Wiley-Blackwell Handbook of Infant Development* (Second ed., Vol. 1). Estados Unidos: Wiley-Blackwell.
- Rovee-Collier, C., & Cuevas, K. (2009). Multiple memory systems are unnecessary to account for infant memory development: an ecological model. *Dev Psychol*, *45*(1), 160-174. doi: 10.1037/a0014538
- Rovee-Collier, C., & Giles, A. (2010). Why a neuromaturational model of memory fails: exuberant learning in early infancy. *Behav Processes*, *83*(2), 197-206. doi: 10.1016/j.beproc.2009.11.013
- Rudy, J. W. (1993). Contextual conditioning and auditory cue conditioning dissociate during development. *Behav Neurosci*, *107*(5), 887-891.
- Rudy, J. W. (1994). Ontogeny of context-specific latent inhibition of conditioned fear: implications for configural associations theory and hippocampal formation development. *Dev Psychobiol*, *27*(6), 367-379. doi: 10.1002/dev.420270605
- Rudy, J. W. (2009). Context representations, context functions, and the parahippocampal-hippocampal system. *Learn Mem*, *16*(10), 573-585. doi: 16/10/573 [pii]
10.1101/lm.1494409
- Rudy, J. W., & Morledge, P. (1994). Ontogeny of contextual fear conditioning in rats: implications for consolidation, infantile amnesia, and hippocampal system function. *Behav Neurosci*, *108*(2), 227-234.
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *20*(1), 11-21.
- Schacter, D., & Moscovitch, M. (1984). Infants, amnesics, and dissociable memory systems. In M. Moscovitch (Ed.), *Advances in the study of communication and affect: Vol. 9. Infant memory*. New York: Plenum Press.
- Schiffino, F. L., Murawski, N. J., Rosen, J. B., & Stanton, M. E. (2011). Ontogeny and neural substrates of the context preexposure facilitation effect. *Neurobiol Learn Mem*, *95*(2), 190-198. doi: S1074-7427(10)00197-8 [pii]
10.1016/j.nlm.2010.11.011
- Smotherman, W. P., Goffman, D., Petrov, E. S., & Varlinskaya, E. I. (1997). Oral grasping of a surrogate nipple by the newborn rat. *Dev Psychobiol*, *31*(1), 3-17.
- Spear, L. P., Specht, S. M., Kirstein, C. L., & Kuhn, C. M. (1989). Anterior and posterior, but not cheek, intraoral cannulation procedures elevate serum corticosterone levels in neonatal rat pups. *Dev Psychobiol*, *22*(4), 401-411. doi: 10.1002/dev.420220407

- Spear, N. E. (1984). The future study of learning and memory from the psychobiological perspective. In V. Sarris & A. Parducci (Eds.), *Perspectives in psychobiological experimentation: toward the year 2000*. Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Squire, L. R. (2009). The legacy of patient H.M. for neuroscience. *Neuron*, *61*(1), 6-9. doi: 10.1016/j.neuron.2008.12.023
- Squire, L. R., & Zola-Morgan, S. (1983). The neurology of memory: The case for correspondence between the findings for human and nonhuman primate. In J. A. Deutsch (Ed.), *The Physiological Basis of Memory*. New York: Academic.
- Squire, L. R., & Zola, S. M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *93*(24), 13515-13522.
- Stanton, M. E. (2000). Multiple memory systems, development and conditioning. *Behav Brain Res*, *110*(1-2), 25-37. doi: S0166432899001825 [pii]
- Todd, T. P. (2013). Mechanisms of renewal after the extinction of instrumental behavior. *J Exp Psychol Anim Behav Process*, *39*(3), 193-207. doi: 10.1037/a0032236
- Todd, T. P., Vurbic, D., & Bouton, M. E. (2014). Mechanisms of renewal after the extinction of discriminated operant behavior. *J Exp Psychol Anim Learn Cogn*, *40*(3), 355-368. doi: 10.1037/xan0000021
- Todd, T. P., Winterbauer, N. E., & Bouton, M. E. (2012a). Contextual control of appetite. Renewal of inhibited food-seeking behavior in sated rats after extinction. *Appetite*, *58*(2), 484-489. doi: S0195-6663(11)00666-0 [pii]
- 10.1016/j.appet.2011.12.006
- Todd, T. P., Winterbauer, N. E., & Bouton, M. E. (2012b). Effects of the amount of acquisition and contextual generalization on the renewal of instrumental behavior after extinction. *Learn Behav*, *40*(2), 145-157. doi: 10.3758/s13420-011-0051-5
- Trask, S., Thrailkill, E. A., & Bouton, M. E. (2017). Occasion setting, inhibition, and the contextual control of extinction in Pavlovian and instrumental (operant) learning. *Behav Processes*, *137*, 64-72. doi: 10.1016/j.beproc.2016.10.003
- Varlinskaya, E. I., Petrov, E. S., Cheslock, S. J., & Spear, N. E. (1999). A new model of ethanol self-administration in newborn rats: gender effects on ethanol ingestion through a surrogate nipple. *Alcohol Clin Exp Res*, *23*(8), 1368-1376.
- Yap, C. S., & Richardson, R. (2007). Extinction in the developing rat: an examination of renewal effects. *Dev Psychobiol*, *49*(6), 565-575. doi: 10.1002/dev.20244