



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Efectos de la exposición a estrés agudo en la ejecución de tareas de omisión de recompensa y en los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas wistar

Mayerli Andrea Prado Rivera, Ps.

**Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Humanas
Departamento de Psicología
Bogotá D.C.
2012**

Efectos de la exposición a estrés agudo en la ejecución de tareas de omisión de recompensa y en los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas wistar

**Mayerli Andrea Prado Rivera, Ps.
Código: 458629**

Tesis para optar al título de Magíster en Psicología con énfasis en la línea: Efectos del estrés sobre el aprendizaje con el uso de modelos experimentales

**Directora
Marisol Lamprea Rodríguez, MSc, PhD.**

**Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Humanas
Departamento de Psicología
Bogotá D.C.
2012**

Agradecimientos

Quiero dedicar especialmente esta tesis a mi mamá y a mi hermana como muestra de gratitud infinita por el respeto y respaldo absoluto que siempre han tenido por mis decisiones.

Así mismo quiero agradecer a la profesora Marisol Lamprea, quien supervisó el presente trabajo, por su compromiso con la realización de este proyecto. No se limitó a ser una guía siempre dispuesta durante los experimentos y discusiones, sino que procuró transmitir el pensamiento crítico, la rigurosidad metodológica, la capacidad de gestión, y la humanidad que tanto la caracterizan.

En segundo lugar quiero agradecer a Carolina Cárdenas Poveda porque fue mi principal compañera para discutir y conciliar desde las más pequeñas inquietudes hasta los argumentos más robustos, y nunca desaprovechó la oportunidad de brindarme su amistad con paciencia, disposición, confianza, humor y una buena taza de café.

También quiero agradecer a Lina Fernanda González por su amistad incondicional representada en las palabras acertadas en los momentos oportunos, y por su ejemplo de determinación y entereza en momentos difíciles.

Agradezco también a mis compañeros del Grupo de Neurofisiología Comportamental por su apoyo, a Leonardo Ortega por compartir sus conocimientos con claridad y gentileza, y a los profesores Alejandro Múnera y Julieta Troncoso por todas sus enseñanzas y críticas en los seminarios del grupo, Germán Gutiérrez por su disposición, aportes y sugerencias, y Mauricio Papini por su cordialidad durante mi estadía en su laboratorio.

Finalmente el presente trabajo fue realizado gracias a la financiación de la Dirección de Investigación de Bogotá (DIB) de la Universidad Nacional de Colombia por medio de la convocatoria de apoyo a tesis de investigación en posgrados, 2011.

Resumen

El objetivo general del presente trabajo fue determinar los efectos de la exposición a estrés agudo por restricción motora en el aprendizaje de dos situaciones de omisión de recompensa y en los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas Wistar macho. Para el experimento 1, veintiún sujetos experimentales (control n=11 y estrés n=10) fueron expuestos al protocolo de estrés agudo treinta minutos antes de ser entrenados en la extinción de una tarea espacial en el laberinto circular de Barnes, y diez minutos después de concluido el entrenamiento fueron recolectadas muestras de sangre para la determinación de los niveles de corticosterona. Durante la extinción, tanto los animales del grupo control como los expuestos a estrés mantuvieron la preferencia por el agujero meta al tiempo que disminuyeron los demás indicadores de aprendizaje. Sin embargo, los últimos realizaron una mayor cantidad de exploraciones a los agujeros diferentes al meta durante los dos primeros ensayos de extinción. El análisis de corticosterona no arrojó diferencias entre los grupos. En el experimento 2, se emplearon setenta y nueve sujetos entrenados para consumir una solución de sacarosa al 32% (grupo devaluación) o al 4% (grupo control) durante diez días, y al día siguiente ambos grupos recibieron una concentración de 4% de sacarosa (ensayo de devaluación), previa exposición al protocolo de estrés agudo. Durante todo el procedimiento fue registrado el tiempo acumulado de consumo. Diez minutos después del ensayo de devaluación fueron recolectadas muestras de sangre para la determinación de los niveles de corticosterona. El estrés agudo no modificó la tasa de consumo en ninguno de los grupos, pero aquellos animales expuestos a estrés mostraron una reducción significativa en la concentración plasmática de corticosterona. Los resultados sugieren que el estrés agudo tiene un efecto comportamental específico en el aprendizaje de la omisión de recompensa de la tarea instrumental pero no de la consumatoria. Asimismo, los resultados indican que los efectos sobre la actividad del eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal dependen tanto de la activación emocional propia de los paradigmas así como de la ventana temporal entre la presentación del estresor y la ocurrencia de la omisión.

Palabras clave: Omisión de recompensa, estrés agudo, extinción, contraste sucesivo negativo consumatorio, corticosterona, eje HPA

Abstract

The purpose of this study was to determine the effects of restrain stress on learning of two reward omission situations and on plasmatic corticosterone levels in male Wistar rats. In experiment 1, twenty-one subjects (control n=11; stress n=10) were exposed to acute stress protocol thirty minutes before extinction training of a spatial task in Barnes maze. Ten minutes after finishing extinction, blood samples were collected to corticosterone level determination. During extinction the goal-hole preference and the remaining learning criteria were preserved in both groups. However, the non goal-holes were significantly more visited by stressed group during the first and second extinction trials. No differences in plasmatic corticosterone were found. In experiment 2, seventy-nine subjects were trained to 32% or 4% sucrose consumption during ten days. Next day (day 11-downshifted) all animals received 4% sucrose. Thirty minutes before downshift the acute stress protocol was administered. The goal tracking time (GTT) was measured. Ten minutes after finishing downshift, blood samples were collected to determine plasma corticosterone level. No differences were found in GTT by acute stress, but stressed animals exhibited significant lower plasma corticosterone level. The results suggest that acute stress has a specific behavioral effect on reward omission learning in instrumental task but do not on consummatory task. Furthermore, the results point out that hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity depends on the intrinsic emotional activation of the task as well as the time window between stress exposure and reward omission appearance.

Key words: Reward omission, acute stress, extinction, consummatory successive negative contrast, corticosterone, HPA axis

Contenido

	Pág.
Resumen y Abstract	VII
Lista de Figuras	XI
Lista de Abreviaturas	XII
Introducción	1
Omisión de recompensa	1
Contraste sucesivo negativo consumatorio	2
Extinción	3
Teorías del contraste y la extinción	6
Eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal y estrés	8
Restricción motora	12
Estrés agudo y situaciones de omisión de recompensa	13
1. Justificación	15
2. Objetivos	17
2.1 Objetivo General	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3. Hipótesis	19
4. Experimento 1	21
4.1 Método	21
4.1.1 Sujetos	21
4.1.2 Instrumentos	21
4.1.3 Procedimiento	22
4.1.4 Inducción de Estrés	24
4.1.5 Análisis de concentración de corticosterona en plasma	25
4.1.6 Consideraciones Éticas	26
4.1.7 Tipo de Investigación y Diseño	26
4.1.8 Análisis Estadístico	28

4.2 Resultados	29
4.2.1 Adquisición y Recuperación	29
4.2.2 Extinción	31
4.3 Discusión	40
5. Experimento 2	49
5.1 Método	49
5.1.1 Sujetos	49
5.1.2 Instrumentos	49
5.1.3 Procedimiento	49
5.1.4 Inducción de Estrés	51
5.1.5 Análisis de concentración de corticosterona en plasma	53
5.1.6 Consideraciones Éticas	53
5.1.7 Tipo de Investigación y Diseño	53
5.1.8 Análisis Estadístico	54
5.2 Resultados	54
5.2.1 Procedimiento A: Devaluación y Toma de Muestra	55
5.2.2 Procedimiento B: Devaluación hasta día 15	57
5.3 Discusión	60
6. Discusión General y Conclusiones	67
Referencias	77
Anexos	115

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Eje Hipotálamo-pituitario-suprarrenal	10
Figura 2. Fotografía del Laberinto circular de Barnes	22
Figura 3. Fotografía del restrictor de movimiento	24
Figura 4. Diseño experimento 1	25
Figura 5. División virtual del Laberinto circular de Barnes por sector	28
Figura 6: Latencia a meta en adquisición y recuperación	30
Figura 7: Indicadores de exploraciones totales, distancia total recorrida, errores de exploración y errores ponderados en adquisición y recuperación	31
Figura 8. Latencia primaria y exploraciones al agujero meta en extinción	33
Figura 9. Latencia de inicio, distancia total recorrida y exploraciones totales en extinción	34
Figura 10. Frecuencia de exploraciones y exploraciones ponderadas diferentes al meta en extinción	35
Figura 11. Exploraciones por sector en extinción	37
Figura 12. Indicadores de ejecución por minuto durante el primer ensayo de extinción	39
Figura 13. Niveles de concentración de corticosterona plasmática, experimento 1	40
Figura 14. Fotografía de la Caja de condicionamiento	50
Figura 15. Protocolo general experimento 2	52
Figura 16. Diseño experimental, experimento 2	54
Figura 17. Tiempo acumulado de consumo de procedimiento A, experimento 2	56
Figura 18. Niveles de concentración de corticosterona plasmática, experimento 2	57
Figura 19. Tiempo acumulado de consumo de procedimiento B, experimento 2	58

Lista de abreviaturas

ACTH: Hormona adrenocorticotropa

CeA: Núcleo central de la amígdala

CRF: Factor liberador de corticotropina

CSNc: Contraste sucesivo negativo consumatorio

ELISA: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima

GABA: ácido gamma-aminobutírico

HPA: Eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal

LCB: Laberinto circular de Barnes

NPV: Núcleo paraventricular del hipotálamo

PCC: Prueba con caja

Introducción

Omisión de recompensa

En aquellas tareas de aprendizaje donde parte del arreglo experimental es el reforzamiento continuo por el comportamiento realizado, se ha encontrado que los organismos no solo aprenden la asociación entre los estímulos del contexto experimental, sino también la expectativa de recibir una recompensa por su ejecución (Flaherty, 1996), entendiendo por expectativa el conocimiento particular de que un evento precede a otro, o que una respuesta lleva a un resultado particular (Ursin, y Eriksen, 2004). Así pues, es de esperarse que cuando se les pone nuevamente en la situación experimental, los organismos recuerden no solo qué deben hacer para resolver la tarea, sino también que serán recompensados por llevarla a cabo correctamente. Ejemplo de ello son los estudios de Tinklepaugh en 1928 donde se les enseñó a unos monos a levantar una taza luego de una demora variable para recibir una banana como recompensa. Luego, sin que los animales lo notaran, el experimentador cambiaba la banana por una lechuga y observaba la respuesta de los monos. El resultado fue una evidente respuesta negativa de los animales, evidenciada por la negativa de los monos para tomar la nueva recompensa, tirar algunos objetos e incluso gritar frente a los experimentadores. El comportamiento observado sugirió que este conjunto de respuestas ocurría porque los animales eran capaces de hacer una comparación entre una recompensa específica previa y una nueva condición en la que el reforzamiento tenía para ellos un menor valor (Tinklepauhg, 1928). A partir del trabajo de Tinklepaugh e investigaciones siguientes, algunos autores se han interesado en el estudio y la comprensión de las respuestas comportamentales y fisiológicas luego de la omisión inesperada de la recompensa. El presente trabajo se centra en dos fenómenos específicos que ocurren por tal omisión: el contraste sucesivo negativo consumatorio y la extinción.

Según Tolman, una recompensa motiva a un animal para realizar una conducta particular que le permita acceder a ella (Tolman, 1959). De esta manera, el cambio en la magnitud de la recompensa tiene un efecto sobre la motivación del animal, y por lo tanto, sobre los comportamientos que realiza para alcanzar este objetivo (Flaherty, 1996). Luego de que un organismo aprende a ser recompensado por su comportamiento, la entrega de tal recompensa puede ser modificada de al menos tres formas posibles. La primera de ellas es el aumento cuantitativo o cualitativo de la recompensa. En este caso, el cambio da lugar al fenómeno de contraste positivo, y en general, se ha descrito que el comportamiento que lleva a la obtención de la recompensa incrementa conforme aumenta su magnitud. La segunda forma de modificación en la entrega de la recompensa implica su reducción o devaluación. Este cambio da lugar al fenómeno de contraste negativo, y se ha estudiado en tareas instrumentales y consumatorias. Los estudios de Zeaman (1949), Crespi (1942) y Elliot (1928) describían que los animales mostraban reducción en el consumo de alimentación, o reducción en la respuesta instrumental en laberintos de corredor recto, además de algunas de las respuestas descritas previamente por Tinklepaugh (Flaherty, 1996). Finalmente, si el cambio en la magnitud de la recompensa implica su retirada total, este cambio conlleva al fenómeno de extinción de la conducta, cuya principal característica es la reducción significativa de la respuesta inicialmente aprendida para acceder a la recompensa.

Contraste sucesivo negativo consumatorio

El fenómeno del contraste sucesivo negativo consumatorio (CSNc) es la consecuencia de la devaluación en la cantidad o la calidad de la recompensa previamente recibida, y su principal característica comportamental es la reducción en el consumo de la nueva recompensa. Se ha definido como contraste por el cambio en la recompensa (de mayor a menor), sucesivo porque la devaluación ocurre después de la experiencia con la recompensa mayor, negativo porque el cambio implica el paso de una recompensa mayor a una menor, y consumatorio porque el tipo de conducta evaluada es el consumo, usualmente de sacarosa o sacarina. Dentro de las variables estudiadas que afectan el comportamiento consumatorio luego de la devaluación se incluyen: a) la discrepancia entre recompensas; b) la exposición temprana a la recompensa devaluada (antes del entrenamiento); c) la tasa de privación de alimento y/o agua; y d) el intervalo entre el entrenamiento y la devaluación. En primer lugar, a mayor disparidad entre la

recompensa inicial y la recompensa devaluada, mayor contraste. Por ejemplo Flaherty, Becker, y Osborne (1983), entrenaron a varios grupos de ratas a consumir sacarosa en diferentes porcentajes (32%, 16% y 8%). Luego redujeron la concentración de sacarosa a 4% en los tres grupos. Encontraron que la mayor reducción en el consumo de sacarosa fue en aquellos animales devaluados de 32% a 4%, una reducción menor tras devaluación de 16% a 4%, y no encontraron reducción en el consumo tras devaluación de 8% a 4%. Por otro lado, varios estudios han mostrado que la experiencia previa con la concentración que fuera usada como devaluación (4%) no reduce la ocurrencia de contraste negativo, aún si la presentación es única, alternada con la solución de mayor valor (32-4-32-4) o de doble alternancia (32-32-4-4) (Flaherty, Becker, y Checke, 1983; Flaherty, Clark, y Coppotelli, 1996). En tercer lugar, tanto animales privados como no privados de alimento muestran una reducción significativa de la respuesta de consumo tras devaluación de la concentración de sacarosa de 32% a 4% (Riley, y Dunlap, 1979). Finalmente, a mayor intervalo entre el entrenamiento y la reducción de la recompensa, menor contraste. Los estudios manipulando esta variable han mostrado que luego de entrenar durante 10 días a un grupo de ratas para consumir 32% de sacarosa, no se observa reducción del consumo si la devaluación de 32% a 4% se realiza 17 o más días después del entrenamiento (Ciszewski, y Flaherty, 1977; Flaherty, y Lombardy, 1977; y Gordon, Flaherty, y Riley, 1973 en Flaherty, 1996).

Extinción

El fenómeno de extinción se refiere a la reducción de la respuesta condicionada por la ausencia total de recompensa en el condicionamiento instrumental, o por la no presentación del estímulo incondicionado en el condicionamiento clásico (Domjan, 2010). Algunas variables estudiadas que afectan el comportamiento tras la omisión total de recompensa en el condicionamiento instrumental son: a) intervalo interensayo y número de ensayos; b) el tipo de contingencia aprendida durante el entrenamiento; y c) el contexto. En general, más número de ensayos de extinción potencian su mantenimiento; además, a menor intervalo de tiempo entre ensayos, mayor mantenimiento de la extinción de la respuesta (Domjan, 2010). Asimismo, gran cantidad de estudios han descrito que la reducción de la respuesta durante la extinción es claramente diferente si, durante el entrenamiento de la tarea, la respuesta fue constante o parcialmente recompensada. Si cada emisión de respuesta es recompensada durante el

entrenamiento, la reducción de dicha respuesta durante la extinción es más rápida. Por el contrario, si durante el entrenamiento la respuesta es algunas veces recompensada y otras no, la respuesta es más persistente durante la extinción (Ishida, y Papini, 1997). Finalmente, Bouton ha demostrado en varios estudios el papel del contexto durante el aprendizaje inicial de una tarea y en su extinción. Considerando que un contexto es más que un espacio físico ya que incluye claves propioceptivas y el tiempo en el que ocurre un comportamiento (Bouton, Westbrook, Corcoran, y Maren, 2006), durante el condicionamiento, parece ser más relevante la asociación respuesta-recompensa que la asociación entre la respuesta, la recompensa, o las dos, con el contexto en el que ocurre tal contingencia. Sin embargo, durante la extinción la ausencia de recompensa facilita la asociación estímulo-respuesta donde el estímulo lo constituye el contexto, y por ello se ha afirmado que la extinción es dependiente del contexto (Bouton, 2002).

Como ya se mencionó, en las situaciones de omisión de la recompensa típicamente se observa una reducción en la respuesta previamente entrenada. Algunos autores han descrito que, además de tal reducción, ocurren cambios comportamentales característicos que la acompañan (semejantes a aquellos observados tras la administración de un estímulo típicamente aversivo como un choque eléctrico (Papini, y Dudley, 1997). Estos cambios comportamentales se han denominado reacciones emocionales negativas o aversivas, e incluyen también respuestas de tipo fisiológico. Quirk y Mueller (2008) afirman que estas reacciones son necesarias porque preparan a los sujetos para ajustarse al cambio de contingencias que están experimentando. Específicamente en el paradigma de contraste negativo consumatorio, estas reacciones emocionales incluyen el aumento de conductas ambulatorias dentro de la caja de consumo, y la activación del eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal (HPA). Pellegrini y Mustaca (2000) encontraron que además de la reducción en el consumo de sacarosa o alimento sólido, medida a partir de la tasa de consumo, las ratas presentaron incrementos en la conducta ambulatoria y frecuentemente se levantaban en sus patas traseras durante una tarea de contraste negativo usando solución de sacarosa (32% y 4%). Por otro lado, otros autores observaron un aumento en los niveles de corticosterona en plasma luego de la devaluación de sacarosa de 32% a 4% luego del segundo día de devaluación de sacarosa (Mitchell, y Flaherty, 1998), y Pecoraro y colaboradores, encontraron un aumento tanto en los niveles de corticosterona, como de la hormona

adrenocorticotropa (ACTH) diez minutos después del primer ensayo de reducción de sacarosa de 32% a 4% (Pecoraro, de Jong, y Dallman, 2009).

En el paradigma de extinción de tareas que involucran el condicionamiento instrumental, algunas reacciones emocionales observadas tras la retirada del reforzamiento incluyen el aumento de la actividad locomotora, vocalizaciones y la activación del eje HPA. Por ejemplo, Amsel y colaboradores, observaron un aumento en las vocalizaciones ultrasónicas en ratas sometidas a extinción en una tarea de corredor recto, además de un aumento en los tiempos de desplazamiento dentro del instrumento (Amsel, Radek, Graham, y Letz, 1977). Por otro lado, Coover y colaboradores mostraron un aumento en la concentración plasmática de corticosterona luego del primer día de extinción de una tarea operante en ratas expuestas a un programa de reforzamiento continuo (Coover, Goldman, y Levine, 1971b).

Teorías del contraste y la extinción

Tanto la típica reducción de la respuesta tras la omisión de recompensa como la ocurrencia de los cambios comportamentales y fisiológicos que la acompañan, han tratado de ser explicadas desde diversas teorías que incluyen alguna o las dos situaciones de omisión mencionadas. Por un lado, se propuso que la reducción de la respuesta ocurría por la disminución de la generalización de la respuesta por un cambio en el contexto. Capaldi afirmó que cada episodio de exposición a una organización contextual determinada fortalecía la asociación entre dicha organización y la respuesta ejecutada por el organismo. De esta manera, si la organización cambia, la fuerza asociativa de ésta con la respuesta también. Según este autor, cuando una recompensa que hace parte de la organización es reducida, la respuesta disminuye en principio porque no existe ninguna memoria de una asociación previa entre la nueva organización y la respuesta. Así pues, tras la exposición repetida a la nueva organización, se va fortaleciendo la asociación entre la respuesta y el nuevo contexto, y la respuesta disminuida se va recuperando gradualmente (Capaldi, 1972). Por otro lado, cuando la recompensa es retirada completamente, la memoria de la presencia del estímulo incondicionado durante el condicionamiento sería reemplazada por la memoria de su ausencia durante la extinción, y por tanto eliminaría el conjunto de eventos que fueron

asociados con el reforzamiento durante la adquisición. De esta manera, la respuesta disminuiría como consecuencia del cambio en la memoria relacionada con las condiciones de estimulación (Weidemann, 2005). Sin embargo, si el cambio en el contexto explicara la disminución de la respuesta por disminución de la generalización, cualquier modificación en éste sería suficiente. En un estudio, Lombardi y Flaherty (1978) introdujeron un estímulo novedoso treinta segundos después de realizar la devaluación de sacarosa de 32% a 4%. Se esperaba que la devaluación sumada a la presencia del tono aumentaran el contraste y por lo tanto la disminución de la respuesta en ensayos subsiguientes. No obstante, los animales mostraron una frecuencia de consumo mayor, es decir, una pobre respuesta de contraste, explicado mejor por un efecto desinhibitorio que por disminución de generalización. Asimismo, varios estudios mencionados en la revisión de Weidemann (2005), mostraron que esta teoría no explica la ausencia de algunos fenómenos de recobro de la respuesta luego de entrenamientos prolongados de extinción. Si la reducción en la respuesta durante la extinción se debe al cambio en alguno o varios estímulos del contexto, la reorganización al contexto original de entrenamiento provocaría la recuperación de la respuesta. Sin embargo, se ha encontrado que luego de entrenamiento prolongado de extinción, el regreso al contexto original de entrenamiento no provoca la recuperación de la respuesta inicial.

Una propuesta diferente, cuyo principio asume el aprendizaje de expectativas para explicar la reducción de la respuesta por omisión es la teoría de la frustración planteada por Abram Amsel. Este autor afirmaba que durante el aprendizaje de una tarea, los organismos aprenden a anticipar la llegada de una recompensa porque el contexto actúa como señal. Si posteriormente en el mismo contexto la recompensa es inesperadamente ausente o reducida, la discrepancia entre lo esperado y lo recibido provoca un estado de frustración primaria o aversión incondicionada. De esta manera, el conflicto entre la señal que antes anticipaba la llegada de la recompensa y que ahora anuncia su ausencia o reducción provocaría el cambio observado en el comportamiento (Domjan, 2010; Ortega, y Papini, 2007). Para el caso del contraste consumatorio la teoría predice que el estado de frustración primaria ocurre tras el primer ensayo de devaluación de sacarosa (4%). En el segundo ensayo compiten dos expectativas: una, de recibir la recompensa originalmente entrenada (32%), y otra, de volver a experimentar el estado de frustración del primer ensayo de devaluación, lo cual provoca un conflicto

acercamiento-evitación y explicaría el bajo consumo en este ensayo. Sin embargo, en los siguientes ensayos de devaluación la respuesta de consumo se recupera gradualmente porque el sujeto aprende una nueva contingencia, a saber, que sigue recibiendo una recompensa por su respuesta de consumo, que aunque de menor valor respecto al entrenamiento inicial, se asume que sigue siendo apetitiva (Ortega, y Papini, 2007). Para el caso de extinción, no ocurriría un conflicto de acercamiento-evitación como en el contraste, porque la respuesta ya no es reforzada en ningún ensayo. De esta manera, en los siguientes ensayos se va adquiriendo una expectativa: volver a experimentar el estado de frustración del primer ensayo de extinción. Por lo anterior, la anticipación de la frustración en cada ensayo reducirá la magnitud de la respuesta instrumental aprendida (Weidemann, 2005).

Algunos autores han propuesto que la reducción de la respuesta en las situaciones en las que se omite totalmente el reforzador, como es el caso de la extinción, se debe a la adquisición de un nuevo aprendizaje que implica más bien la adquisición de una asociación inhibitoria facilitada por un estado emocional aversivo, y no la destrucción del aprendizaje original durante el condicionamiento, como se había planteado varias décadas atrás (Bouton, 2002; Bouton, y cols., 2006; Domjan, 2010; Quirk, y Mueller, 2008). Según estos autores, durante la extinción ocurriría un cambio en la asociación estímulo-respuesta. Dado que el no reforzamiento de la respuesta durante la extinción provoca un estado de frustración primaria (siguiendo la hipótesis de frustración de Amsel mencionada anteriormente), el no reforzamiento en presencia de un estímulo o contexto específico provocaría dicho estado y reduciría la probabilidad de responder ante tal estímulo, provocando una asociación inhibitoria entre el estímulo (o contexto) y la respuesta (Rescorla, 2001).

Finalmente, también se ha propuesto que la ocurrencia de conductas de ambulación y el aumento de la actividad locomotora luego de la reducción de recompensas podría explicarse por la búsqueda de la recompensa perdida. Aunque no se han realizado muchos estudios evaluando esta hipótesis planteada por Elliot en 1928, el grupo de Flaherty y colaboradores mostraron que aquellos animales devaluados de 32% a 4% de sacarosa, además de reducir su consumo, aumentaron significativamente

su actividad de levantarse en las patas traseras y de desplazamiento dentro del instrumento (Flaherty, Blitzer, y Collier, 1978). Asimismo, animales entrenados a consumir 32% de sacarosa (en pellets) al final de uno de los ocho brazos de un laberinto radial, mostraron mayor frecuencia de entradas a brazos diferentes al brazo donde se encontraba la sacarosa de 32% cuando este porcentaje se redujo a 4% (Flaherty, 1996).

Eje Hipotálamo-Pituitario-Suprarrenal y estrés

Las teorías anteriormente mencionadas destacan uno de los elementos compartidos por los dos fenómenos de omisión, a saber, la reducción de la respuesta previamente aprendida. Sin embargo, la liberación de corticosterona (en roedores) como consecuencia de la exposición a la retirada de la recompensa, también ha sido demostrada en los dos fenómenos. La corticosterona es una hormona esteroide liberada como producto de la liberación de la hormona adrenocorticotropa (ACTH) que a su vez es sintetizada y liberada por la acción del factor liberador de corticotropina (CRF). Las acciones de estas hormonas sobre el organismo hacen parte de la activación del eje HPA que se esquematiza en la figura 1.

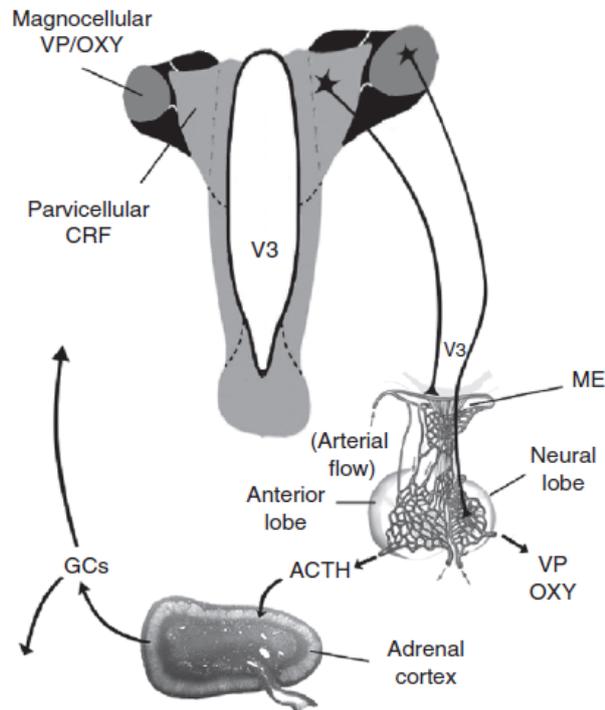


Figura 1. Eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal (HPA). El núcleo paraventricular del hipotálamo rodea el tercer ventrículo (V3) y está compuesto por una región que contiene neuronas parvicelulares y magnocelulares. Las primeras sintetizan el factor liberador de corticotropina (CRF) que estimula a la adenohipófisis a través del sistema porta de la eminencia media (ME). Las segundas sintetizan las hormonas arginina/vasopresina (VP) y oxitocina (OXY) que son almacenadas en la neurohipófisis. Una vez la adenohipófisis es estimulada por la liberación de CRF, sintetiza y libera la hormona adrenocorticotropa (ACTH) en el torrente sanguíneo. La ACTH estimula, entre otras, la zona fasciculata de la corteza suprarrenal, la cual sintetiza y libera glucocorticoides (GC: cortisol en humanos y primates, y corticosterona en roedores). Los GC tienen efectos sobre el metabolismo de la glucosa, el sistema inmune, la retroalimentación del eje HPA, entre otros (Figura modificada de Pecoraro, y Dallman, 2009)

Se ha descrito ampliamente que la activación del eje HPA ocurre en respuesta a la exposición de estímulos que alteren directa o indirectamente la homeostasis del organismo. Entre los primeros se cuentan las agresiones físicas como heridas, quemaduras, fracturas, etc., exposición a temperaturas extremas, choques eléctricos,

privación de sueño, entre muchos otros. Entre los segundos se encuentran aquellas claves ambientales que señalan alguna amenaza para la supervivencia o para la homeostasis del organismo (Herman, 2009). Cabe señalar que la misma distinción entre los tipos de estímulos que afectan el equilibrio fisiológico del organismo se encuentra en la clasificación de los tipos de estresores que provocan la respuesta de estrés, cuyo sustrato biológico es, entre otros, el funcionamiento del eje HPA (Sandi, Venero, y Cordero, 2001). De esta manera, aquellos estímulos amenazantes para el equilibrio del organismo pueden ser entendidos como estresores dado que su presencia produce, entre otras cosas, la liberación de hormonas como la corticosterona. Varios autores han señalado que existen tres características en una situación que también pueden alterar la homeostasis de un organismo por provocar una situación de riesgo probable para la supervivencia: a) la novedad, que involucra la exposición a un estímulo o ambiente no conocido; b) la impredecibilidad, que se refiere a la imposibilidad de identificar el momento de aparición de un estresor; y/o c) la incontrolabilidad del estresor, que implica la aparición del estresor independientemente del comportamiento del organismo (Lupien, 2009). Se ha observado que la exposición a cualquiera de estas características ambientales o a su combinación, produce un aumento significativo en los niveles plasmáticos de corticosterona. Por ejemplo, Tsuda, y colaboradores administraron descargas eléctricas repetidas a dos grupos de ratones. A uno de los grupos, antes de la administración de la descarga, se le presentaba una luz durante doce segundos y luego se producía el choque; en el otro grupo la descarga era presentada sin la presentación previa de luz. Estos autores encontraron que los niveles plasmáticos de corticosterona evaluados veinticuatro horas después eran significativamente mayores en el grupo de animales que no podían predecir la llegada de la descarga eléctrica (Tsuda, Ida, Satoh, Tsujimaru, y Tanaka, 1989). Más recientemente, Kurumaji y colaboradores expusieron a un grupo de ratones a un ambiente novedoso durante diferentes intervalos de tiempo, y encontraron un aumento significativo en los niveles plasmáticos de corticosterona tras exposición durante 15, 30, 60 y 90 minutos a un ambiente novedoso (Kurumaji, Umino, y Nishikawa, 2011). Finalmente, además del efecto directo o indirecto de un estresor, y de su controlabilidad o predictibilidad, la homeostasis del organismo también puede afectarse por la frecuencia de su aparición, que puede ser aguda o crónica.

La literatura muestra gran diversidad de hallazgos positivos, negativos o sin efecto del estrés considerando las variables mencionadas. En una revisión reciente con el fin de agrupar los efectos más consistentes respecto a los efectos del estrés sobre el aprendizaje y la memoria, Sandi y Pinelo-Nava proponen algunos elementos: 1) la duración del estresor, que puede ser aguda o crónica; 2) la intensidad del estresor, que puede ser leve, moderada o severa; 3) el momento de presentación del estresor, que puede ser antes o después del aprendizaje de la tarea, o antes de probarlo; y 4) el tipo de tarea entrenada, que en sujetos no humanos, puede dividirse en dos grandes clasificaciones: tareas que evalúan memoria procedural (p. ej. condicionamiento clásico) y tareas que modelan memoria explícita, como las tareas de localización espacial (Sandi, y Pinelo-Nava, 2007). En particular, respecto a los efectos del estrés sobre el aprendizaje, concluyen que: 1) el estrés crónico de alta intensidad inducido por restricción motora, no afecta el aprendizaje de condicionamiento al miedo, pero si deteriora el aprendizaje espacial; 2) el estrés agudo inducido por restricción motora facilita el aprendizaje del condicionamiento pavloviano de parpadeo y de miedo contextual, mientras que no tiene un efecto sobre el aprendizaje espacial.

Por otro lado, se ha sugerido que además de los estresores que pueden ser manipulados antes o después del aprendizaje, la exposición misma a la tarea es moderadamente estresante en tanto que emocionalmente activadora (Joëls, Pu, Wiegert, Oitzl, y Krugers, 2006; Kloet de, Oitzl, y Joëls, 1999). Esto resulta fundamental, considerando la utilidad ecológica que representa para los organismos aprender y recordar información especialmente relevante para su supervivencia: “la rápida identificación de experiencias peligrosas en el pasado, así como la habilidad para incrementar la velocidad y precisión de las reacciones comportamentales a las amenazas, aumenta las posibilidades de supervivencia de cualquier individuo...” (Sandi, y Pinelo-Nava, 2007, p. 4). Particularmente, la liberación de corticosterona tras exposición a tareas emocionalmente activadoras ha sido demostrada en diversidad de estudios, y evitar su liberación o la unión a sus receptores ha mostrado efectos deletéreos sobre el aprendizaje de dichas tareas. Por ejemplo, Oitzl y de Kloet mostraron que animales adrenalectomizados gastaban significativamente más tiempo en encontrar la plataforma en el laberinto acuático de Morris que aquellos animales en los grupos de falsa lesión y control, y tal dificultad fue observada desde el primer ensayo de

entrenamiento, y hasta tres días después. Además, encontraron que este mismo efecto ocurría tras administración intracerebroventricular de antagonistas específicos de los receptores intracelulares de corticosterona (Oitzl, y Kloet de, 1992). Asimismo, otro estudio mostró que aquellos animales expuestos al laberinto acuático de Morris, cuya temperatura del agua fue de 19°C, requirieron menos tiempo para encontrar la plataforma de escape y tuvieron un aumento significativo en los niveles plasmáticos de corticosterona, en contraste con animales expuestos al laberinto con 25°C (Sandi, Loscertales, y Guaza, 1997); y Cordero, y colaboradores encontraron que la adquisición de la respuesta de congelamiento durante el entrenamiento de una tarea de condicionamiento de miedo contextual estaba asociada a mayores niveles de corticosterona plasmática (Cordero, Merino y Sandi, 1998).

Restricción motora

Como se ha descrito hasta ahora, existe gran cantidad de estrategias para inducir estrés y observar sus efectos sobre el aprendizaje. En roedores, la inmovilización o restricción motora ha sido una de las más utilizadas. Se sabe que esta situación actúa efectivamente como estresor porque una única exposición tiene efectos inmediatos y a largo plazo en la activación del eje HPA. La exposición a la inmovilización por un periodo de veinte minutos mostró ser capaz de producir incrementos en los niveles plasmáticos de corticosterona inmediatamente y a los 45 y 90 minutos. Por otra parte, la exposición al mismo estresor una semana después produjo elevaciones significativamente mayores en los niveles plasmáticos de esta hormona en comparación con los animales que no habían tenido esta experiencia previa, aunque el retorno a niveles basales fue más rápido (Dal-Zotto, Martí, y Armario, 2003). Adicionalmente, la inmovilización aguda por periodos de 15, 30 y 60 minutos también producen elevaciones significativas de corticosterona (Gameiro, y cols., 2006). Típicamente, la restricción motora se reconoce como un estresor de tipo físico, sin implicar un daño irreversible o deterioro crónico (Buynitsky, y Mostofsky, 2009), y sus efectos como estresor agudo y crónico se han estudiado sobre el aprendizaje, y especialmente sobre las fases de consolidación y recobro. Nooshinfar y colaboradores describieron un deterioro en el recobro de la tarea de evitación pasiva evaluada inmediatamente después de la restricción motora durante 3 y 5 horas pero no durante una hora; sin embargo, la inmovilización durante 2 horas

diarias por una semana facilitó el recobro en la misma tarea (Nooshinfar, Akbarzadeh-Baghban, y Meisami, 2011). De forma semejante, Blank y colaboradores encontraron que una hora de restricción motora dificultó el recobro de un condicionamiento de miedo contextual aprendido veinticuatro horas antes (Blank, Nijholt, Vollstaedt, y Spiess, 2003).

Estrés agudo y situaciones de omisión de recompensa

En general son muy pocos los estudios que se conocen sobre los efectos del estrés agudo en fenómenos como la extinción o el contraste entre recompensas. Considerando que la corticosterona es liberada por la inducción de estrés, algunos estudios han manipulado su disponibilidad a nivel sistémico o central para evaluar sus efectos sobre la extinción de algunas tareas. Por ejemplo, en un estudio de condicionamiento de congelamiento en ratones, la inhibición de la síntesis de corticosterona por la administración de 50 mg/kg de metirapona 90 minutos antes de la extinción, no afectó la ejecución durante la extinción misma, pero sí disminuyó su recobro evaluado veinticuatro horas después; y en otro estudio, la adrenalectomía realizada dos horas antes de la extinción de una tarea de evitación activa dificultó la adquisición de la extinción (veáse la revisión de Quervain de, Aerni, Schelling, y Roozendaal, 2009). Asimismo, Yang y colaboradores encontraron que la administración subcutánea de 25 mg/kg de metirapona 90 minutos antes de la extinción, dificultó su recuperación veinticuatro horas después, mientras que la administración de dexametasona, un agonista de receptores de glucocorticoides, facilitó su recobro (Yang, Chao, y Lu, 2006). En algunos estudios que evalúan el contraste, la administración subcutánea de 3 mg/kg de corticosterona luego del primer ensayo de devaluación en una tarea de contraste consumatorio aumentó el contraste y dificultó su recuperación en días posteriores de devaluación (Bentosela, Ruetti, Muzio, Mustaca, y Papini, 2006). En este mismo estudio se evaluaron los efectos temporales de la inyección sistémica de corticosterona, y encontraron que su administración ya no tuvo algún efecto sobre la recuperación del contraste cuando ésta fue inyectada tres horas después de finalizado el primer ensayo de devaluación. En otro estudio, Ruetti y colaboradores (2009) administraron 3mg/kg de corticosterona inmediatamente después del primer ensayo de devaluación y, además de replicar los hallazgos de Bentosela y colaboradores (2006), encontraron que la administración de corticosterona solo aumentó el contraste en animales devaluados de

32% a 4% pero no en sujetos devaluados de 8% a 4% (Ruetti, Justel, Mustaca, y Papini, 2009)

Ahora bien, considerando que tanto la exposición a eventos amenazantes para la supervivencia como el cambio sorpresivo en las contingencias ambientales son eventos que ocurren a lo largo de las especies, y que tales situaciones resultan emocionalmente activadoras en tanto que activan el sistema de alarma del sujeto al percibir una modificación inesperada en su ambiente (Ursin y Eriksen, 2004), sería relevante evaluar cómo la ocurrencia de un evento estresante podría modular las respuestas comportamentales y fisiológicas que un organismo evidencia luego de estar expuesto a un cambio inesperado en las contingencias de su entorno. Por un lado, como se mencionó previamente, una estrategia experimental para inducir estrés agudo es la restricción de movimientos. Por el otro, dos paradigmas experimentales donde puede manipularse el cambio inesperado de la recompensa son: el Contraste Sucesivo Negativo consumatorio (CSNc) y la extinción de la tarea espacial en el Laberinto circular de Barnes (LCB). En el CSNc, se entrena a un sujeto a consumir una solución de sacarosa al 32%. Luego, esta solución es reducida a 4% y se evalúan las repuestas del sujeto tras esta devaluación. Como se mencionó previamente, los sujetos reducen significativamente el consumo de la solución presentada. Sin embargo, los animales suelen recuperarse del contraste al quinto día de la devaluación, evidenciado en un tiempo acumulado de consumo semejante a aquel durante el último día de entrenamiento (Flaherty, 1996, presenta varios estudios al respecto). En el LCB, se entrena a una rata para escapar de un laberinto que consiste en una plataforma circular elevada del suelo. Ésta contiene un número determinado de agujeros periféricos los cuales le permiten a los sujetos escapar hacia una caja localizada debajo de la plataforma ayudados por un conjunto de claves visuales extralaberínticas. Luego del aprendizaje de escape, se ha demostrado que los animales pueden entrenarse en la extinción de la tarea, y similar a lo descrito en el CSNc, se ha encontrado una reducción en el respuesta de escape, demostrado en indicadores como la menor frecuencia de exploración de agujeros y menor velocidad de desplazamiento (Cárdenas, 2009; Vargas-López, Lamprea y Múnera, 2011).

1. Justificación

Los capítulos son las principales divisiones del documento. En estos, se desarrolla el Los roedores han sido un modelo animal altamente aceptado para evaluar algunos fenómenos observados en muchas especies incluida la humana. Uno de tales fenómenos es el aprendizaje. En las últimas décadas se ha propuesto que este fenómeno puede comprenderse mejor considerando también la adquisición de expectativas como mecanismo explicativo (Dickinson, 1989). En una situación de aprendizaje, un organismo puede asociar que la presencia de un estímulo A antecede la llegada de otro estímulo B, o que la ejecución de una respuesta X conlleva a un resultado particular Y. Asimismo, se aprende la expectativa de un estímulo B dado A, o bien la expectativa de un resultado Y dada una respuesta X (Ursin y Eriksen, 2004). Si luego de este aprendizaje, impredeciblemente A no conlleva a B, o X no conlleva a Y, el organismo tenderá a responder en función de dicho cambio para adaptarse a él, modificando su comportamiento y activando los sistemas fisiológicos necesarios para realizar tal ajuste (Levine, y Ursin, 1991). Esta modificación conductual y fisiológica ocurre por la activación del sistema de alarma o respuesta de estrés. Se ha descrito que la modificación en el comportamiento incluye la reducción de la respuesta previamente aprendida, y los cambios fisiológicos incluyen la liberación plasmática de corticosterona (en roedores). Cabe destacar que la respuesta de estrés también ocurre tras experimentar una situación estresante o que altera la homeostasis del organismo. En este sentido, se ha observado que el cambio conductual involucra comportamientos de lucha/huida, y el cambio fisiológico, la liberación de glucocorticoides (Sandi, y cols., 2001).

Por su parte, el grupo de Neurofisiología Comportamental de la Universidad Nacional de Colombia ha evaluado los efectos del estrés agudo por restricción motora sobre la recuperación y la extinción de una tarea espacial en el LCB. Se considera una tarea espacial porque establece la ubicación del organismo respecto a un punto particular, y su importancia radica en que al entrenar a los sujetos para recordar apropiadamente la ruta, las disposiciones espaciales y un objetivo particular, sirve para modelar situaciones naturales donde los organismos deben optimizar su desplazamiento

dentro de un espacio determinado para aumentar su efectividad y así hallar alimento, madrigueras, y otras cosas relevantes para su supervivencia (Domjan, 2010). Para motivar la conducta de escape en este laberinto, se han usado estímulos apetitivos como el alimento, o aversivos como una luz o un sonido intensos. Varios experimentos han demostrado que este laberinto tiene una sensibilidad semejante a otras tareas espaciales para estudiar lesiones, manipulaciones genéticas, tratamientos farmacológicos, y efectos del estrés sobre el aprendizaje espacial (Carrillo-Mora, Giordano, y Santamaría, 2009; Sunyer, Patil, Höger, y Lubec, 2007), y además produce por sí mismo menores incrementos en los niveles plasmáticos de corticosterona, en comparación con lo que sucede con la exposición a, por ejemplo, el laberinto acuático de Morris (Harrison, Hosseini, y McDonald, 2009). En uno de los estudios realizados por el grupo de Neurofisiología Comportamental de la Universidad Nacional de Colombia, se entrenó a un grupo de ratas Wistar macho para escapar de la plataforma durante dos sesiones de entrenamiento, cada una compuesta por ocho ensayos. Veinticuatro horas después de la última sesión se indujo estrés por restricción motora durante una hora antes de la prueba de retención de la tarea. Se encontró que la inducción de estrés agudo mejoró los indicadores de memoria pero no tuvo efectos sobre la extinción de la tarea, entrenada dos minutos después de la recuperación (Torres, 2006). En otro estudio realizado por el mismo grupo se entrenó a un grupo de ratas durante una única sesión de ocho ensayos, y se indujo estrés durante una hora antes de la recuperación de la tarea. En contraste con el anterior, este estudio mostró que la restricción no solo deterioró el recobro de la tarea, sino que mejoró la extinción de la respuesta de escape, entrenada dos minutos después de la recuperación (Cuestas, 2006).

No obstante, hasta donde se sabe, no se ha evaluado la ocurrencia de la respuesta de estrés como consecuencia de la interacción de las dos variables mencionadas que la provocan, a saber: la omisión de recompensa y la inducción aguda de estrés por restricción motora. De esta manera, el presente trabajo pretende evaluar, en ratas Wistar macho, el efecto de la inducción de estrés agudo por restricción motora sobre el aprendizaje de la omisión de recompensas evaluado en el CSNc y el LCB, así como determinar los cambios en el nivel plasmático de corticosterona como consecuencia de la interacción entre el estrés agudo y la exposición a una situación de omisión.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Determinar los cambios comportamentales y fisiológicos por la inducción de estrés agudo por restricción motora durante una hora antes de la exposición a dos situaciones de omisión de recompensa en ratas adultas Wistar macho.

2.2 Objetivos Específicos

- 1- Evaluar los cambios comportamentales que ocurren tras la omisión de recompensa en interacción con el estrés agudo inducido por restricción motora durante una hora antes de la omisión. Esto en las tareas de Contraste Sucesivo Negativo consumatorio (CSNc) y la extinción del aprendizaje espacial en el Laberinto circular de Barnes (LCB).
- 2- Evaluar los cambios comportamentales que ocurren en los cuatro días siguientes a la omisión de recompensa en la tarea de CSNc
- 3- Evaluar los cambios en los niveles plasmáticos de corticosterona asociados a la inducción de estrés agudo por restricción motora durante una hora en interacción con la omisión de recompensa en el CSNc y el LCB.

3. Hipótesis

- 1- Se espera que la inducción de estrés por restricción motora durante una hora sumado a la omisión de la recompensa: a) altere el patrón de extinción en el LCB y b) modifique la ocurrencia del contraste en el CSNc.

- 2- Si el estresor agudo afecta la ocurrencia del contraste, se espera que modifique también su patrón de recuperación.

- 3- Se espera que los niveles de corticosterona evidencien un efecto sumatorio por exposición al estresor más exposición a una omisión de recompensa.

4. Experimento 1

4.1 Método

4.1.1 Sujetos

Fueron utilizadas treinta y nueve ratas Wistar macho de $289,99 \pm 18,25$ gramos de peso (promedio \pm desviación) y aproximadamente tres meses de edad, provenientes del Bioterio de Producción del Instituto Nacional de Salud (Bogotá D.C.). Fueron alojadas en cajas de polietileno de 41 cm de largo X 34 cm de ancho X 25 cm de alto, cuatro animales por caja, y tuvieron acceso libre a agua y alimento. Estuvieron expuestas a un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas (las luces se encendieron a las 7:00 a.m.), y todos los procedimientos se realizaron entre las 7:00 a.m. y la 1:00 p.m., periodo en el cual los niveles basales de corticosterona son más bajos (Jozsa, y cols., 2005; Malisch, Breuner, Gomes, Chappell, y Garland, 2008). Con el fin de que los animales se aclimataran al bioterio, no fueron manipulados durante los primeros cuatro días de llegada salvo para las labores de limpieza.

4.1.2 Instrumentos

El entrenamiento de extinción se realizó en el Laberinto Circular de Barnes (Figura 2) conformado por una plataforma circular sin bordes, elaborada en acrílico negro opaco de 1.22 m de diámetro y 1cm de grosor, y elevada a 80 cm del suelo. En la periferia se encuentran 18 agujeros de 9.5 cm de diámetro cada uno, equidistantemente separados a 20° , y cuyo centro se encuentra a 10 cm del borde de la plataforma. El laberinto tiene también una caja de escape construida con acrílico blanco de 24 cm de largo x 8.75 cm de ancho x 10 cm de alto y puede ser emplazada en cualquiera de los 18 agujeros desde la parte inferior de la plataforma. En la plataforma también se encuentra una caja de salida ubicada en el centro de la misma, que es elevada por medio de un sistema manual de poleas, y en la cual se sitúa al animal al inicio de cada ensayo experimental. Esta caja está construida con acrílico opaco blanco y mide 17 cm de diámetro y 15 cm de alto. Finalmente,

el instrumento está ubicado en una cabina experimental aislada de ruido, y en sus paredes se encuentran estímulos visuales arbitrarios extra-laberínticos que facilitan la ubicación espacial del animal.



Figura 2. Laberinto circular de Barnes. Plataforma circular ubicada en el centro de la sala experimental y que está rodeada de claves extralaberínticas que permiten la ubicación espacial de los animales.

Las sesiones fueron grabadas por medio de un circuito cerrado de televisión en un grabador de DVD para su posterior registro y análisis con ayuda del Software X-PlorRat 2005 de libre acceso diseñado en la Universidad de Sao Paulo, Brasil.

4.1.3 Procedimiento

Pasados cuatro días de aclimatación al bioterio, los animales fueron manipulados cinco minutos diariamente durante tres días antes de iniciar las sesiones experimentales. Posteriormente los sujetos fueron asignados aleatoriamente a una de las condiciones del experimento y fueron entrenados individualmente según el siguiente protocolo:

Día 1: Habitación al instrumento. Los sujetos fueron transportados desde su caja hogar hasta la sala experimental en una caja de transporte cubierta por otra de icopor para disminuir los efectos de ruido, olores y otros durante el traslado. Primero estuvieron expuestos a la caja de escape no emplazada a la plataforma durante dos minutos y fueron regresados a la caja de transporte durante un minuto. Terminado este intervalo fueron ubicados en la caja de escape emplazada a la plataforma durante dos minutos y nuevamente regresados a la caja de transporte durante un minuto. Finalizado

este intervalo, fueron ubicados en la caja de salida durante dos minutos y terminado este periodo transportados a su caja hogar. Para esta fase la cabina experimental permaneció iluminada con una luz roja para facilitar la visión del experimentador y evitar que los animales tuvieran acceso a claves visuales.

Día 2: Adquisición de la tarea espacial. Veinticuatro horas después de terminada la habituación, se realizó el entrenamiento de la tarea. Antes de iniciar el entrenamiento se seleccionó aleatoriamente el agujero donde se emplazaría la caja de escape que mantuvo la misma posición durante los ocho ensayos de adquisición. La sesión se inició transportando al animal desde la caja hogar hasta la sala experimental y ubicándolo en una caja diferente durante dos minutos. Pasado este intervalo el animal fue puesto en la caja de salida durante treinta segundos luego de los cuales se encendieron simultáneamente dos luces blancas alógenas de 150 Watts y un ruido blanco y constante de 90dB, al tiempo que se levantó la caja de salida para que el animal explorara libremente el instrumento hasta encontrar la caja de escape. Cada ensayo terminó cuando la rata se introducía por sí misma al agujero que la conducía a la caja de escape, o cuando se cumplían cuatro minutos de exploración, en cuyo caso, el experimentador la tomaba suavemente por el cuerpo para introducirla a través del agujero meta, y se apagaban las luces y el sonido. Al finalizar el ensayo, el animal permanecía en la caja de escape durante un minuto y luego era llevado a otra caja para dar inicio al siguiente ensayo. El intervalo entre ensayos fue de cuatro minutos y durante éste el experimentador limpió el laberinto con alcohol etílico al 10% para eliminar posibles claves olfativas dejadas por el animal. Terminado el último ensayo, el sujeto era transportado hasta su caja hogar. Si pasados seis ensayos el animal no entraba en la caja de escape y/o se caía dos veces del instrumento era excluido del experimento.

Día 3: Recuperación de la tarea espacial. Veinticuatro horas después del entrenamiento se probó el aprendizaje de la tarea exponiendo al animal a un único ensayo, denominado prueba con caja (PCC), idéntico a cualquier ensayo de adquisición. Terminada esta prueba, el animal era transportado hasta su caja hogar.

Día 4: Extinción de la tarea espacial y toma de muestra. Se realizó veinticuatro horas después de la recuperación. La condición de esta fase fue la omisión de la caja de escape por lo cual ésta no fue emplazada en el laberinto. En cada uno de los ocho ensayos que conformaron la extinción, el animal fue puesto en el laberinto donde

permaneció durante cuatro minutos expuesto a la luz y al ruido blanco sin poder escapar. Terminado este tiempo se apagaron la luz y el sonido y el animal fue ubicado en otra caja hasta el inicio del siguiente ensayo (4 minutos). Terminados los ocho ensayos, el animal fue regresado a su caja hogar.

Diez minutos después, los animales fueron transportados a una cabina alejada de aquella en la cual se encuentra el laberinto, y se tomó la muestra de sangre utilizando la técnica de decapitación (Holson, 1992). La muestra obtenida fue centrifugada durante diez minutos a 500 g en un aparato ADAMS compact II Centrifuge, Becton Dickinson, y el plasma fue extraído y conservado en el refrigerador a -20 °C hasta ser usado para el análisis de concentración de corticosterona.

4.1.4 Inducción de estrés

Los animales asignados a la condición de estrés fueron transportados desde la caja hogar hasta una cabina diferente al bioterio o a la que sirvió para la evaluación comportamental para ser expuestos a restricción motora antes de iniciar el día 4 o fase de extinción. Cada sujeto fue introducido, durante una hora, en un tubo de PVC de 18 cm de longitud y 4,5 cm de diámetro (Figura 3) que impidió el movimiento dorso-ventral del animal (Albonetti, y Farabollini, 1995; Rashidy-Pour, Sadeghi, Taherain, Vafaei, y Fathollahi, 2004). Terminado este periodo de restricción el sujeto fue transportado hasta su caja hogar, y treinta minutos después se dio inicio a la fase experimental.

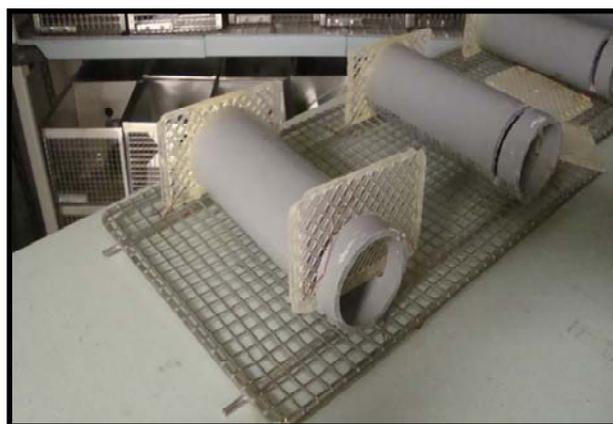


Figura 3. Restrictores de movimiento. Los tubos de restricción fueron ubicados en una sala aislada para reducir la exposición a sonidos externos del laboratorio.

En la figura 4 se describe el diseño general del experimento.

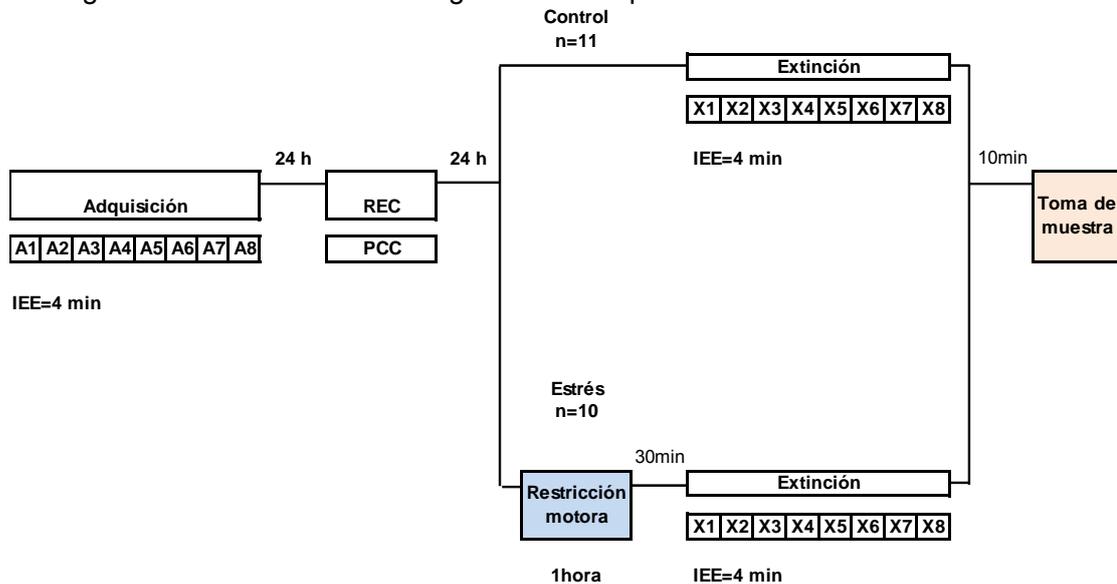


Figura 4. Diseño experimental. Diagrama esquemático del tratamiento experimental para cada grupo. La restricción motora fue inducida 30 minutos antes de iniciar el procedimiento de extinción. (REC) Recuperación del aprendizaje; (PCC) Prueba con caja.

4.1.5 Análisis de concentración de corticosterona en plasma

Para el análisis de la concentración de corticosterona en plasma se utilizó el kit de Ensayo por Inmunoabsorción ligado a enzimas-ELISA ADI-900-097 (Enzo Life Sciences, Inc., Ann Arbor, MI, EUA). Las muestras refrigeradas fueron descongeladas gradualmente hasta llegar a temperatura ambiente y diluidas en proporción 1:40 usando el reactivo de desplazamiento de esteroides incluido en el kit. Posteriormente las muestras diluidas fueron adicionadas por duplicado en los pozos de la placa incluida en el kit. A las muestras se les adicionaron 10 μ L de la solución azul alcalina fosfatasa conjugada con corticosterona y 10 μ L de anticuerpo amarillo policlonal de cabra para corticosterona. Se incubó el plato a temperatura ambiente durante 2 horas en un plato agitador a 500 rpm. Finalizada la incubación, los pozos fueron lavados 3 veces con buffer de lavado y luego se adicionaron 200 μ L de cromógeno pNpp en cada pozo. Se incubó el plato a temperatura ambiente durante 1 hora sin mezclar. Terminado este intervalo se adicionaron 50 μ L de solución de parada a cada pozo e inmediatamente se introdujo el plato en el espectrofotómetro Microplate Imaging System BioRad 2002 Ultramark para

detectar, por densidad óptica, el nivel de absorbancia de las muestras con una longitud de onda de 415 nm y corrección de 590 nm. Se graficó la relación absorbancia/concentración con los valores estándar de la curva arrojados por la lectura del plato, y se calculó la concentración de las muestras ajustando los valores de absorbancia a la línea de tendencia logarítmica obtenida a partir de la gráfica. Finalmente se multiplicó por 40 el valor obtenido de la concentración ya que las muestras fueron diluidas 1:40 al inicio del protocolo ELISA. Las unidades arrojadas de concentración fueron de pg/mL por lo cual se dividió el valor entre 1000 para una unidad final de ng/mL.

4.1.6 Consideraciones éticas

Las condiciones de alojamiento, la totalidad de los procedimientos experimentales y la disposición de los residuos biológicos y químicos se realizaron considerando la normativa nacional: Resolución No 008430 de 1993 del Ministerio de Salud y la Ley 84 del 27 de diciembre de 1989 e internacional: normativa de la Unión Europea (8616091EU) y los Institutos Nacional de Salud de los Estados Unidos de América para los procedimientos en el manejo y cuidado de animales de laboratorio. Con respecto a la aplicación de las normas anteriormente citadas, cabe hacer las siguientes aclaraciones: (1) Todos los procedimientos experimentales fueron sometidos a la consideración de un Comité de Ética, conformado según lo estipulado en el artículo 26 de la Ley 84 de 1989. (2) Se garantizó que todo el personal encargado del cuidado y manejo de los animales de experimentación tuviera conocimiento y experiencia en los procedimientos. (3) Para garantizar la seguridad de los investigadores, la manipulación de los residuos contaminados producidos durante la experimentación se realizó usando bata, gorro, guantes de nitrilo, tapabocas y gafas de protección. (4) Los cadáveres de los animales usados en esta investigación fueron incinerados en el horno de incineración Eco Capital según lo dispuesto por el Sistema de Gestión Ambiental de la Universidad Nacional de Colombia.

4.1.7 Tipo de Investigación y Diseño

Este estudio es de tipo experimental y se llevó a cabo mediante un diseño de grupos independientes expuestos a medidas repetidas cuya variable independiente fue la inducción de estrés por restricción motora durante una hora antes del entrenamiento en la extinción de una tarea espacial previamente aprendida en el LCB.

Durante la adquisición de la tarea, el aprendizaje fue evaluado a partir de la determinación de diferencias significativas en los siguientes indicadores:

- Latencia de escape: Tiempo en segundos desde el inicio del ensayo hasta que el animal tardó en entrar a la caja de escape emplazada en el agujero meta.
- Frecuencia de exploraciones totales: Número de exploraciones a todos los agujeros.
- Distancia total recorrida: Medida en centímetros que representa el recorrido total del animal en la plataforma.
- Frecuencia de errores: Número de exploraciones a agujeros diferentes al meta.
- Errores Ponderados: Índice que valora la magnitud del error cometido por el animal en función de su distancia del agujero meta. Se calculó la distancia entre cada agujero explorado y el agujero meta. Los agujeros más cercanos a la meta tuvieron un valor menor que aquellos más alejados. Es una medida más precisa que el error bruto porque considera la proximidad o lejanía del agujero meta.

Durante la extinción, los indicadores evaluados fueron:

- Latencia primaria: Tiempo en segundos que el animal tardó en explorar por primera vez el agujero que fue meta durante el entrenamiento y la recuperación.
- Latencia de inicio: Tiempo en segundos desde el inicio del ensayo hasta la primera exploración a cualquier agujero.
- Distancia total recorrida.
- Frecuencia de exploraciones totales.
- Frecuencia de exploraciones al agujero meta: Número de exploraciones al agujero que fue meta durante el entrenamiento y la recuperación.
- Frecuencia de exploraciones diferentes al agujero meta: Número de exploraciones diferentes al agujero que fue meta durante el entrenamiento y la recuperación.
- Exploraciones ponderadas diferentes al agujero meta: Índice calculado en función del agujero que fue meta durante el entrenamiento y la recuperación.
- Análisis por sector: Frecuencia de exploraciones de agujero distribuida en dos sectores: Sector meta: agujero que fue meta durante el entrenamiento y los agujeros adyacentes (uno a la izquierda y uno a la derecha). Sector de agujeros restantes: promedio de 15 agujeros restantes distribuidos en 5

sectores (véase Figura 5). Para hacer comparables los dos sectores, se dividió el número total de exploraciones del sector de agujeros restantes entre cinco.

- Análisis por minuto del primer ensayo de extinción para las siguientes medidas: frecuencia de exploraciones totales, frecuencia de exploraciones al agujero que fue meta, frecuencia de exploraciones diferentes al agujero que fue meta, y exploraciones ponderadas respecto al agujero que fue meta en el entrenamiento y la recuperación.

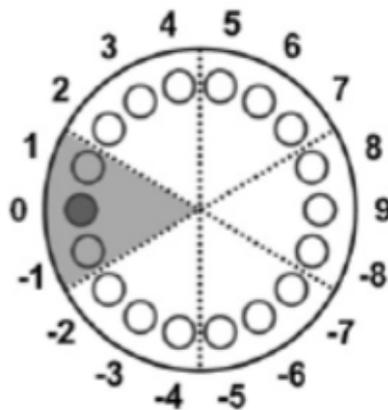


Figura 5. División virtual del laberinto circular de Barnes por sectores. El área gris representa el sector meta; el área blanca representa el sector de agujeros restantes. La numeración de los agujeros está normalizada con respecto a la distancia del agujero meta (Vargas-López, y cols., 2011).

4.1.8 Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza ANOVA de una vía de medidas repetidas para comparar entre ensayos las medidas obtenidas en la fase de adquisición y recuperación de la tarea. Se usaron pruebas paramétricas o no paramétricas de acuerdo a la aprobación de los criterios de normalidad y homogeneidad de varianzas. El análisis pos hoc usado fue Holm-Sidak o Tukey dependiendo si el análisis fue paramétrico o no paramétrico. Para los datos obtenidos en la fase de extinción se realizó análisis de varianza ANOVA de dos vías de medidas repetidas con tratamiento (control o estrés) y ensayo (1 a 8) como factores y el análisis pos hoc usado fue Holm-Sidak. Para el análisis por sector el estadístico usado fue ANOVA de dos vías de medidas repetidas con

factores ensayo y sector, y tratamiento y sector según las comparaciones. Finalmente, para el análisis por minuto el estadístico usado fue ANOVA de dos vías de medidas repetidas con factores intervalo y tratamiento.

Para comparar los niveles de concentración de corticosterona entre los tratamientos se realizó una prueba t-student. Además, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre cada medida comportamental de los ensayos 1 y 8 de extinción de cada tratamiento y los niveles de corticosterona. Para realizar estos análisis se utilizó el programa estadístico SIGMASTAT 3.5. Los gráficos de las medidas calculadas fueron diseñados en Microsoft® Office 2007 y representan el promedio y error estándar de la media (SEM). Para todas las pruebas el nivel de significancia estadística fue establecido para las probabilidades menores o iguales a 0,05.

4.2 Resultados

Los animales incluidos en el análisis final de resultados fueron 21 (n=11 grupo control; n=10 grupo estrés). Se excluyeron aquellos cuya ejecución se encontrara dos desviaciones estándar por encima o por debajo de la media en alguno de los siguientes ensayos: adquisición 8, PCC o extinción 1 en la medida de latencia de llegada a meta.

4.2.1 Adquisición y recuperación

La Figura 6 presenta el tiempo de llegada al agujero meta a lo largo de los ensayos de adquisición y prueba de retención evaluada veinticuatro horas después. Puede observarse que los animales tardaron significativamente menos tiempo para encontrar el agujero meta e ingresar en la caja de escape a partir del cuarto ensayo de adquisición y durante la prueba de retención (prueba con caja, PCC) ($X^2_{(8)}=77,563$; $P < 0,001$).

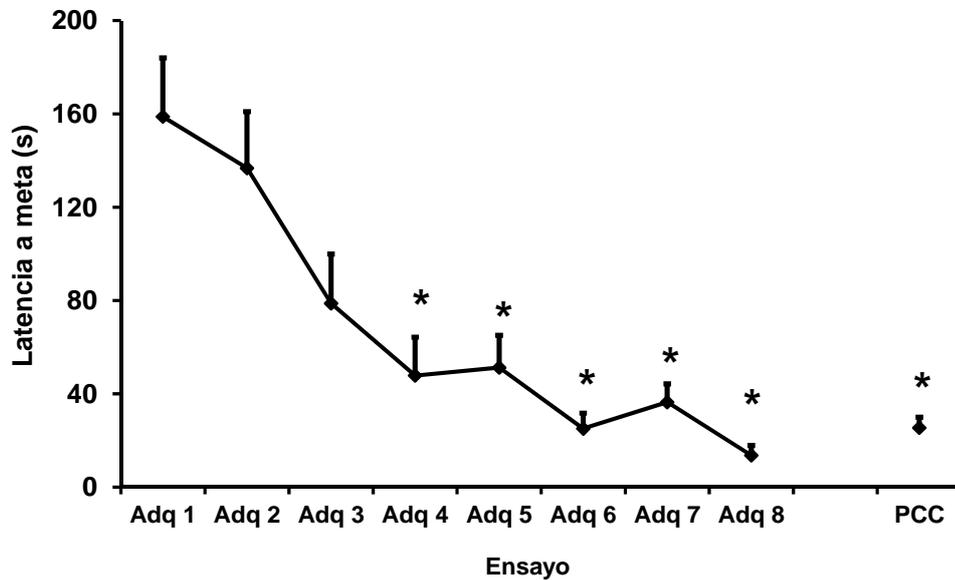


Figura 6. Promedio (\pm SEM) en segundos de la latencia de llegada al agujero meta a lo largo de los ensayos de adquisición y PCC. (*): $p < 0.05$ con respecto al ensayo 1 de adquisición.

La Figura 7 presenta otros indicadores de ejecución durante el entrenamiento y la prueba de retención. En la figura 7A se observa que el número de exploraciones totales disminuye a lo largo de los ensayos ($F_{(8)}=5,885$; $P < 0.001$) y los análisis pos hoc muestran que los ensayos 6, 8 y PCC son significativamente menores en comparación con el primer ensayo de entrenamiento; además, las exploraciones en la PCC no son significativamente mayores del ensayo 8. Por otro lado, la distancia que los animales recorren en el laberinto hasta encontrar el agujero meta es cada vez menor ($F_{(8)}=4,891$; $P < 0,001$). Los análisis pos hoc evidencian que los ensayos 6 y 8 y la PCC son significativamente menores respecto al primer ensayo de adquisición, y la distancia recorrida en la PCC no es significativamente mayor con respecto al ensayo 8 (Figura 7B). Finalmente, tanto la frecuencia de errores ($F_{(8)}=5,304$; $P < 0,001$) como los errores ponderados ($X^2_{(8)}=29,383$; $P < 0,001$) son significativamente menores al finalizar el entrenamiento y veinticuatro horas después con respecto a los errores cometidos en la

adquisición 1; además los errores cometidos en la PCC no son significativamente mayores respecto al ensayo 8 (Figuras 7C y 7D).

En conjunto, los resultados presentados hasta la fase de recuperación evidencian que los animales aprendieron la tarea requerida, es decir, aprendieron a ubicar espacialmente el agujero que los conduciría a la caja de escape y les permitía escapar del contexto aversivo del laberinto, y además, que retuvieron tal aprendizaje veinticuatro horas después.

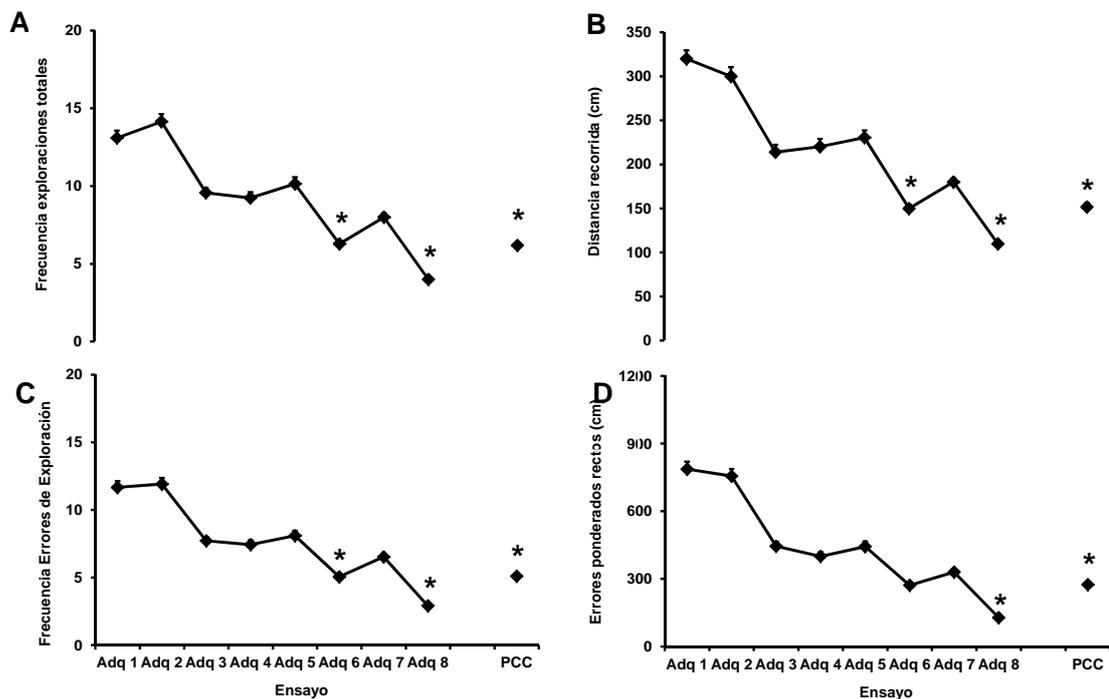


Figura 7. Promedio (\pm SEM) de (A) número de exploraciones totales; (B) distancia total recorrida en el laberinto; (C) número de errores de exploración; (D) errores cometidos con respecto a la distancia del agujero meta. Todas las medidas comparan la ejecución a lo largo de los ensayos de adquisición y PCC. (*) $p < 0.05$ con respecto al primer ensayo de adquisición.

4.2.2 Extinción

Para verificar que los animales del grupo control aún mantenían la información aprendida cuarenta y ocho horas antes sobre la ubicación espacial de la caja de escape, se compararon los ensayos X1 y PCC en las medidas de: a) latencia primaria de llegada a meta; b) frecuencia primaria de exploraciones a agujeros diferentes al meta; y c)

exploraciones ponderadas primarias a agujeros diferentes a meta. Durante la X1, la latencia primaria de llegada a la meta es no significativamente mayor al día anterior de prueba de retención ($t_{(10)}=0,121$; $p=0,906$). Antes de explorar por primera vez el agujero que fue meta en el ensayo X1, los animales exploraron otros agujeros no significativamente menos que la exploración a otros agujeros durante la PCC ($t_{(10)}=0,214$; $p=0,835$). Finalmente, las exploraciones ponderadas antes de explorar por primera vez la meta durante el ensayo X1 fueron no significativamente menores respecto a la PCC el día anterior ($T=16$; $p=0,520$). Lo anterior indica que, cuarenta y ocho horas después de aprender a ubicar espacialmente la caja de escape, aquellos animales sin tratamiento experimental aún recordaban su ubicación, utilizando un tiempo semejante para encontrarla y cometiendo un número semejante de errores y errores ponderados a los cometidos durante la prueba de retención veinticuatro horas antes.

La Figura 8A muestra la latencia primaria de llegada a meta. No se encontró efecto de interacción tratamiento X ensayo ($F_{(1,7)}=1,349$; $P = 0,232$), ni por tratamiento ($F_{(1,7)}=0,0296$; $p=0,865$), pero sí por factor ensayo ($F_{(1,7)}=5,930$; $p<0,001$), donde los análisis pos hoc mostraron que el tiempo de llegada a la meta en el ensayo 8 fue significativamente mayor con respecto al ensayo 1 de extinción (X1) dentro de cada grupo. La figura 8B representa el número de exploraciones al agujero meta durante el entrenamiento de extinción. No se encontró efecto de interacción tratamiento X ensayo ($F_{(1,7)}=0,785$; $P = 0,601$), ni por tratamiento ($F_{(1,7)}=0,00172$; $P = 0,967$), pero sí por factor ensayo ($F_{(1,7)}=8,497$; $P < 0,001$). Los análisis pos hoc evidenciaron que a partir del ensayo 5 las exploraciones al agujero meta son significativamente menores con respecto a X1 dentro de cada grupo.

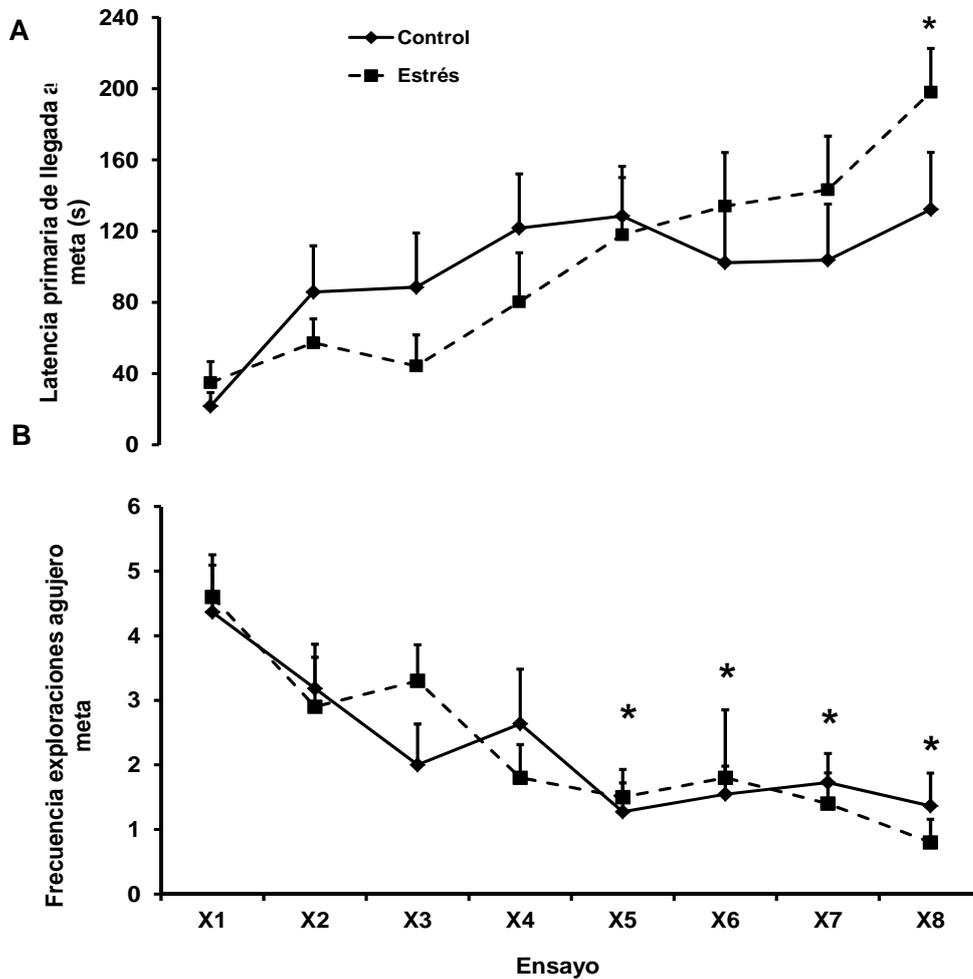


Figura 8. Promedio (\pm SEM) de (A) latencia primaria de llegada a meta y (B) número de exploraciones al agujero meta a lo largo de la fase de extinción. (*) $p < 0.05$ con respecto al ensayo 1 de extinción (X1) para cada grupo.

La Figura 9A presenta la latencia de inicio. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la interacción tratamiento X ensayo ($F_{(1,7)}=0,818$; $P = 0,574$), por factor tratamiento ($F_{(1,7)}=0,695$; $P = 0,415$) ni por factor ensayo ($F_{(1,7)}=1,561$; $P = 0,152$). Esto permite evidenciar que la privación motora por la restricción no tuvo efectos locomotores que impidieran la respuesta de exploración requerida para la ejecución de la tarea. En la figura 9B se observa la distancia total recorrida en centímetros en la cual no se encontraron diferencias significativas por factor tratamiento ($F_{(1,7)}=1,612$; $P = 0,220$) pero sí por factor ensayo ($F_{(1,7)}=55,617$; $P < 0,001$) e interacción tratamiento X ensayo ($F_{(1,7)}=5,639$; $P < 0,001$). Los análisis pos hoc indican que la

distancia recorrida fue significativamente menor para cada grupo a partir del ensayo X2 y hasta el ensayo X8 en comparación con X1, y el grupo estrés recorrió una distancia significativamente mayor que el grupo control en los ensayos X1 y X3. Por otro lado, la figura 9C muestra el número de exploraciones a todos los agujeros del laberinto a lo largo del entrenamiento de extinción cuyas diferencias estadísticamente significativas se encontraron para factor ensayo ($F_{(1,7)}=44,349$; $P < 0,001$) e interacción tratamiento X ensayo ($F_{(1,7)}=6,909$; $P < 0,001$) pero no para el factor tratamiento ($F_{(1,7)}=2,314$; $P = 0,145$). Según los análisis pos hoc, el número total de agujeros explorados disminuye significativamente a partir del ensayo X2 con respecto a X1 y esta diferencia se mantiene hasta X8 para cada grupo; además, el grupo estrés exploró significativamente más veces los agujeros del laberinto en los ensayos X1 y X2 que el grupo control.

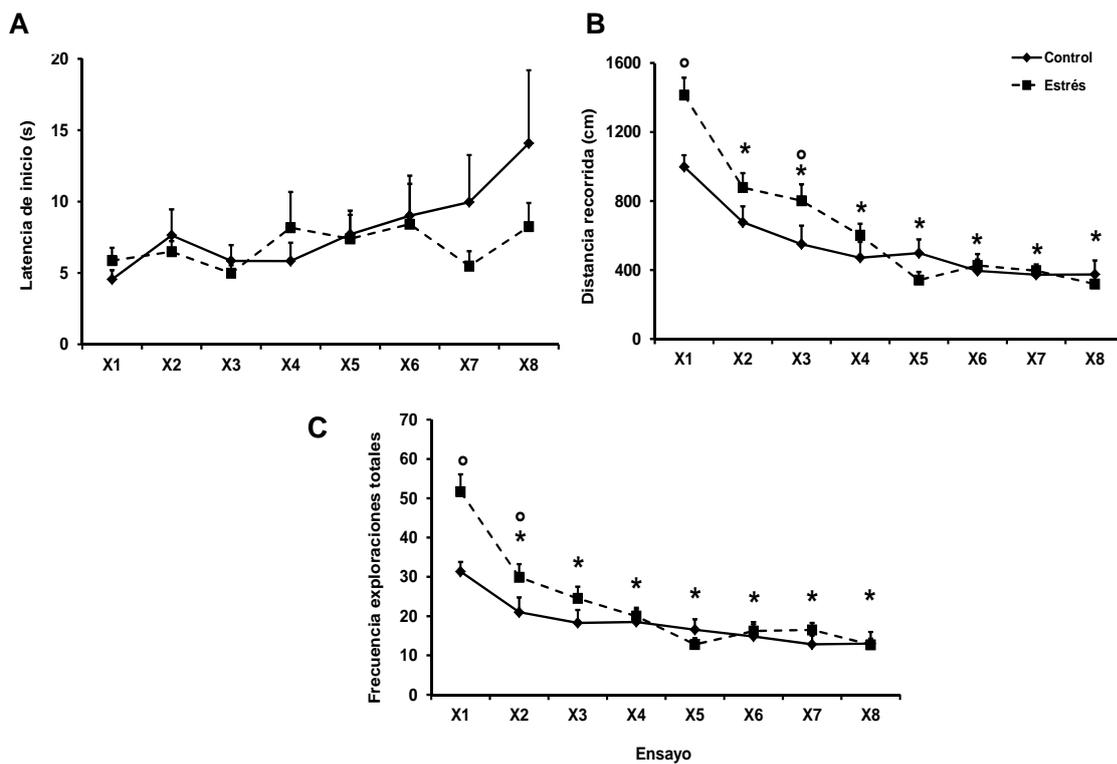


Figura 9. Promedio (\pm SEM) de (A) latencia de inicio; (B) distancia total recorrida; (C) número de exploraciones totales. Todas las medidas muestran la ejecución a lo largo de la fase de extinción. (*) $P < 0.05$ con respecto al primer ensayo de extinción (X1) para cada grupo. (°) Representa diferencia entre grupos en cada ensayo; $P < 0.05$

Al comparar el número de exploraciones a los agujeros diferentes al meta, no se encontraron diferencias significativas por factor tratamiento ($F_{(1,7)}=2,785$; $P = 0,112$) pero sí por ensayo ($F_{(1,7)}=40,542$; $P < 0,001$) donde la frecuencia de exploración disminuye significativamente desde el ensayo X2 y hasta X8 para cada grupo respecto al ensayo X1. Además se encontró un efecto de interacción tratamiento X ensayo ($F_{(1,7)}=7,759$, $P < 0,001$) donde los análisis pos hoc evidenciaron que los animales expuestos a restricción motora exploraron significativamente más veces aquellos agujeros diferentes al meta en los ensayos X1 y X2 respecto del grupo control (Figura 10A). Al evaluar las exploraciones ponderadas con respecto del agujero meta se encontraron efectos tanto por factor ensayo ($F_{(1,7)}=28,974$; $P < 0,001$), donde las exploraciones son significativamente menores en los ensayos X3 hasta X8 para los dos grupos respecto a X1, así como por factor tratamiento ($F_{(1,7)}=4,754$; $P < 0,042$) e interacción tratamiento X ensayo ($F_{(1,7)}=7,163$; $P < 0,001$). Los análisis pos hoc indican que el grupo de animales expuestos a estrés realizó una cantidad significativamente mayor de exploraciones ponderadas respecto al grupo control en el ensayo X1 (Figura 10B).

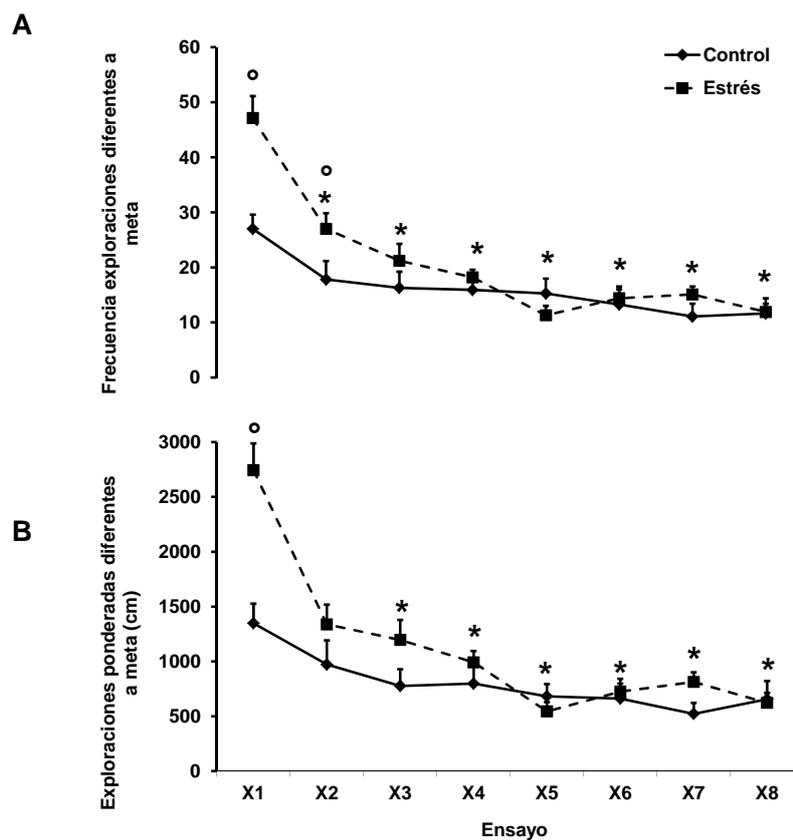


Figura 10. Promedio (\pm SEM) de (A) la frecuencia de exploraciones diferentes a meta y (B) exploraciones ponderadas a agujeros diferentes a meta, durante la fase de extinción. (*) $P < 0.05$ con respecto al primer ensayo de extinción (X1) para cada grupo. (°) Representa diferencias entre grupos, $P < 0.05$.

En la Figura 11 se muestra el análisis de frecuencia de exploración por sector durante la extinción. Dentro del grupo control el número de exploraciones disminuyó progresivamente durante el entrenamiento de extinción (factor ensayo, $F_{(1,7)}=18,036$; $P < 0,002$). Los análisis pos hoc evidencian que la disminución fue estadísticamente significativa para el sector meta desde X2 y hasta X8 respecto al ensayo X1, pero no lo fue para el sector de agujeros restantes. Adicionalmente, se encontraron diferencias significativas de interacción sector X ensayo ($F_{(1,7)}=2,532$; $P < 0,022$), donde, según los análisis pos hoc, los agujeros del sector de agujeros restantes fueron significativamente menos explorados que aquellos del sector meta en los ensayos X1 hasta X7 (Figura 11A). En el grupo estrés, el número de exploraciones también disminuyó progresivamente a lo largo de los ensayos ($F_{(1,7)}=14,353$; $P < 0,001$) y fue una reducción estadísticamente significativa con relación a X1 desde X3 para el sector meta, y desde X2 para el sector de agujeros restantes. En los dos sectores, la diferencia se mantuvo hasta el último ensayo de extinción (X8). Así mismo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la interacción sector X ensayo ($F_{(1,7)}=2,326$; $P < 0,035$), donde, según los análisis pos hoc, la frecuencia de exploración fue significativamente menor en el sector de agujeros restantes respecto al sector meta en los ensayos X1, X2, y desde X4 hasta X6 (Figura 11B). Comparando el tratamiento dentro de cada sector, la Figura 11C muestra la comparación entre los tratamientos para el sector meta durante el entrenamiento de extinción. No se encontraron diferencias significativas entre tratamiento ($F_{(1,7)}=0,0146$; $P = 0,905$), ni de interacción tratamiento X ensayo ($F_{(1,7)}=1,067$; $P = 0,388$), pero sí por factor ensayo ($F_{(1,7)}=13,431$; $P < 0,001$). Los análisis pos hoc indican que las exploraciones disminuyeron significativamente desde el ensayo X4 hasta el X8 con respecto al ensayo X1 dentro del grupo control, mientras que la frecuencia de exploración disminuye significativamente desde el ensayo X3 hasta el X8 para el grupo expuesto a restricción motora. Finalmente, en la Figura 11D se observa la comparación entre tratamientos para el sector de agujeros restantes. Se encontraron efectos por factor ensayo ($F_{(1,7)}=30,595$; $P < 0,001$), e interacción tratamiento X ensayo ($F_{(1,7)}=7,230$; $P < 0,001$). Los análisis pos hoc evidencian que la frecuencia de exploración disminuye significativamente a partir del ensayo X3 y se mantiene hasta X8 respecto a X1 dentro del grupo control, mientras que la disminución de exploraciones es significativa desde X2 hasta X8 respecto a X1 para el grupo estrés. Además, el grupo estrés explora

significativamente más veces los agujeros restantes que el grupo control en los ensayos X1 y X3 de extinción.

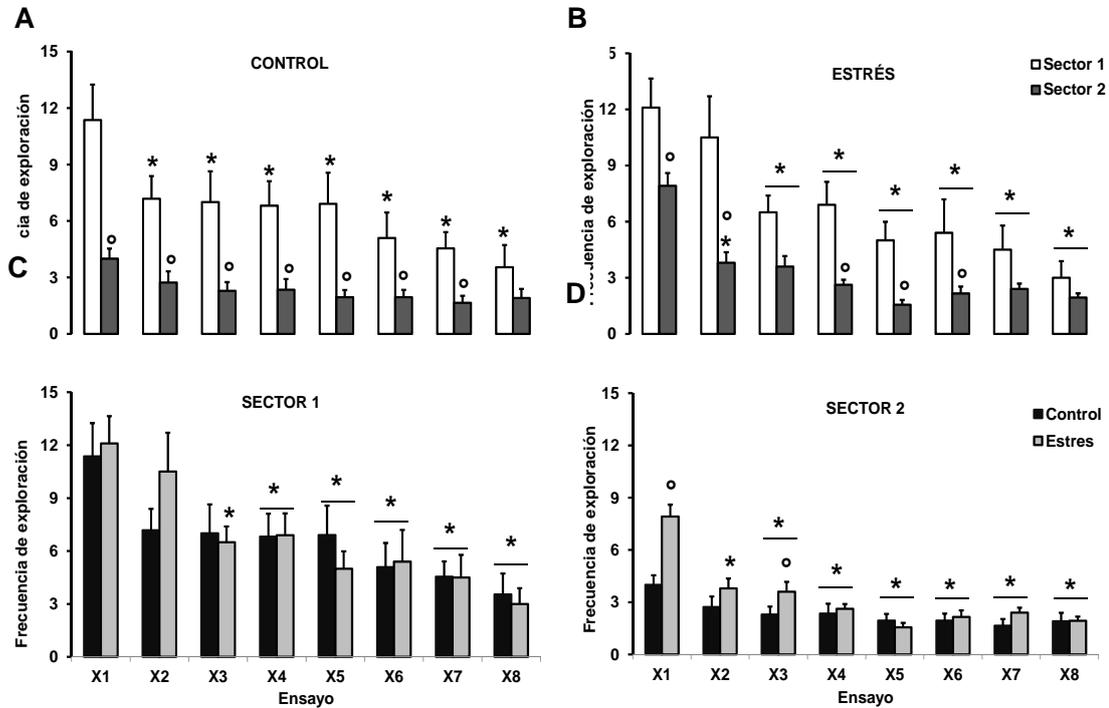


Figura 11. Promedio (\pm SEM) de frecuencia de exploración. (A) Sector meta vs. Sector de agujeros restantes, grupo control; (B) Sector meta vs. Sector de agujeros restantes, grupo estrés; (C) Control vs. Estrés, sector meta; (D) Control vs. Estrés, sector de agujeros restantes. (*) $p < 0.05$ con respecto al primer ensayo de extinción (X1) dentro de cada grupo. (°) Representa diferencias entre grupos, $p < 0,05$.

El análisis por minuto en el ensayo 1 de extinción (X1) permite una evaluación más detallada sobre el desempeño de los animales dentro del ensayo en el que éstos detectan por primera vez la ausencia de la caja que les permite escapar del laberinto. La Figura 12A presenta la frecuencia de exploraciones totales por minuto. Se encontraron efectos significativos para los factores intervalo ($F_{(1,3)}=21,785$; $P < 0,001$) y tratamiento ($F_{(1,3)}=17,816$; $P < 0,001$) pero no para interacción tratamiento X intervalo ($F_{(1,3)}=1,896$; $P = 0,141$). Los análisis pos hoc evidencian que la disminución en el número de agujeros explorados es estadísticamente significativa en los minutos 3 y 4 para los dos grupos con respecto al minuto 1; además, el número de exploraciones del grupo estrés es significativamente mayor en comparación con el grupo control en los minutos 1, 2 y 3. La Figura 12B muestra la frecuencia de exploraciones al agujero que fue meta. Se

encontraron diferencias estadísticamente significativas por factor intervalo ($F_{(1,3)}=3,606$; $P < 0,019$), pero no por factor tratamiento ($F_{(1,3)}=0,0732$; $P = 0,813$) ni de interacción tratamiento X intervalo ($F_{(1,3)}=0,603$; $P = 0,616$). Los análisis pos hoc no mostraron diferencias significativas entre intervalos para ninguno de los dos tratamientos; sin embargo, un análisis separado entre el minuto 1 y minuto 4 dentro del grupo estrés mostró que el número de exploraciones al agujero meta fue significativamente menor en el minuto 4 ($T=2,588$, $p<0,05$). Esta misma comparación fue no significativa en el grupo control ($t_{(10)}=1,896$; $p=0,087$). La Figura 12C muestra la frecuencia de exploraciones a los agujeros diferentes al agujero que fue meta. Las diferencias significativas se encontraron para los factores intervalo ($F_{(1,3)}=21,535$; $P < 0,001$) y tratamiento ($F_{(1,3)}=19,252$; $P < 0,001$), pero no para interacción tratamiento X intervalo ($F_{(1,3)}=1,659$; $P = 0,186$). Los análisis pos hoc indicaron que las exploraciones en los minutos 3 y 4 son significativamente menores respecto al minuto 1 para los dos grupos, y el número de exploraciones es significativamente mayor en el grupo estrés con respecto al grupo control en los cuatro intervalos. Finalmente, las exploraciones ponderadas a los agujeros diferentes al que fue meta pueden ser observadas en la Figura 12D. Se encontraron diferencias significativas para los factores intervalo ($F_{(1,3)}=16,976$; $P < 0,001$) y tratamiento ($F_{(1,3)}=21,906$; $P < 0,001$) donde las exploraciones ponderadas fueron significativamente menores en los minutos 3 y 4 respecto al minuto 1 de cada grupo. El efecto de interacción tratamiento X intervalo ($F_{(1,3)}=0,881$; $P = 0,456$) fue no significativo, pero los análisis pos hoc indicaron que las exploraciones ponderadas sí fueron significativamente mayores para el grupo estrés respecto al grupo control en todos los intervalos.

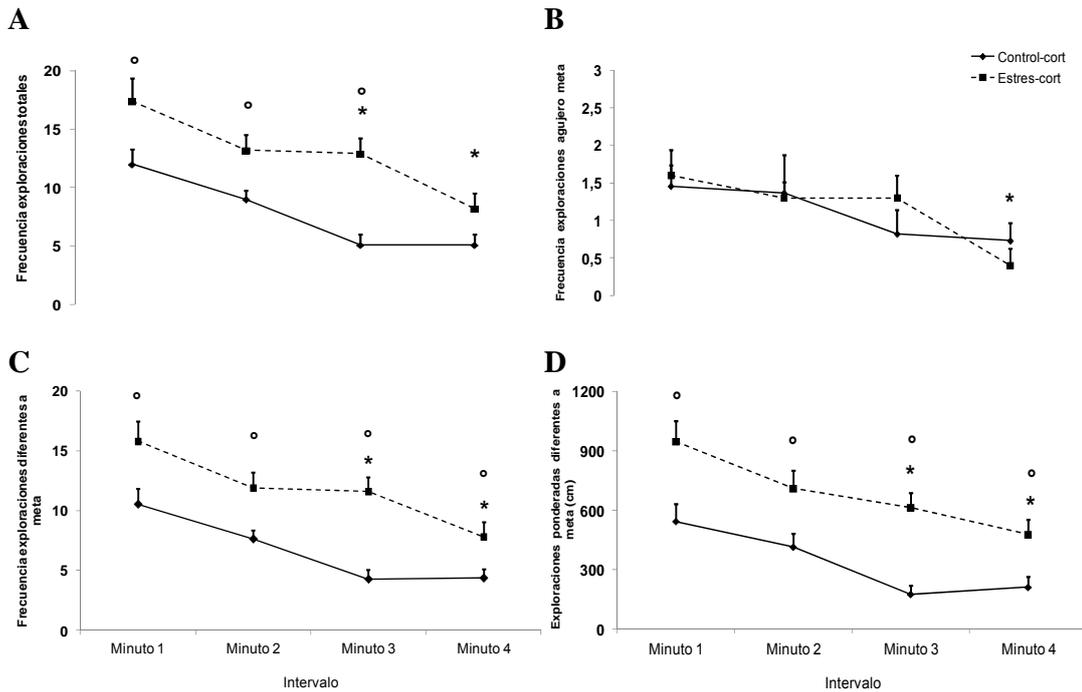


Figura 12. Promedio (\pm SEM) de frecuencia de exploración por minuto de: (A) agujeros totales; (B) agujero meta, y (C) agujeros diferentes a meta. (D) Exploraciones ponderadas a agujeros diferentes a meta. Todas las medidas fueron analizadas para el primer ensayo de extinción. (*) $P < 0.05$ con respecto al intervalo 1 (minuto 1) dentro de cada grupo. (°) Representa diferencias entre grupos, $p < 0,05$

La Figura 13 presenta la concentración de corticosterona plasmática en ng/mL calculada a partir del plasma extraído 10 minutos después de finalizado el entrenamiento de extinción. La comparación entre los tratamientos usando una prueba t-student no mostró diferencia significativa entre los grupos ($t_{(10)}=0,404$, $P = 0,694$).

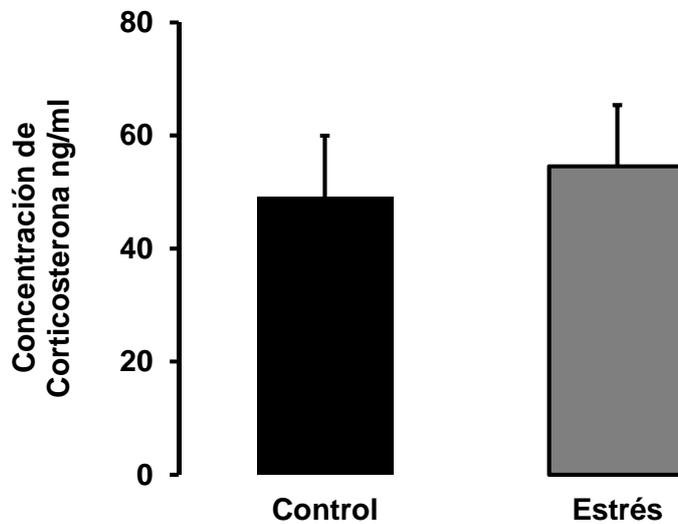


Figura 13. Promedio (\pm SEM) de concentración de corticosterona plasmática (ng/mL) para los dos grupos (n=6 por grupo).

Los análisis de correlación entre las variables dependientes analizadas en la extinción y los niveles de concentración de corticosterona no arrojaron ninguna correlación estadísticamente significativa. En la tabla del Anexo 3 se resumen los coeficientes de correlación r y el valor P de cada comparación en los ensayos de extinción X1 y X8 para cada grupo.

4.3 Discusión

Los resultados observados en el experimento realizado en el Laberinto Circular de Barnes pueden resumirse de la siguiente forma:

1. Todos los animales aprendieron la ubicación de la caja de escape y mantuvieron dicho aprendizaje veinticuatro horas después, al ser evaluados en una prueba de retención.
2. Cuarenta y ocho horas después del entrenamiento todos los animales, aún aquellos que fueron expuestos a estrés agudo, retuvieron la información aprendida sobre la ubicación de la caja de escape. Esta afirmación se basa en que a) en el primer ensayo de extinción los dos grupos utilizaron un tiempo semejante para llegar por

primera vez al agujero donde se encontraba la caja de escape durante el entrenamiento y la recuperación, y exploraron un número semejante de veces el agujero que fue meta, y b) la distribución de exploraciones por sectores mostró que los dos grupos de animales exploraban significativamente más los agujeros del sector meta (agujero meta más adyacentes) respecto al sector de agujeros restantes (los demás agujeros) y no se observaron diferencias entre los grupos para el número de exploraciones en el sector meta.

3. En todos los indicadores evaluados se observaron reducciones significativas en el último ensayo de extinción con relación al primero para los dos grupos, lo que permite suponer un ajuste del comportamiento en relación con la nueva condición, esto es, la ausencia de la caja de escape durante el entrenamiento de extinción.
4. El número de exploraciones a los agujeros diferentes al meta, las exploraciones totales y la distancia total recorrida se incrementaron en los animales expuestos a estrés en comparación con los del grupo control durante los dos primeros ensayos de la extinción, pero esta diferencia desaparece a partir del tercer ensayo.
5. La frecuencia de exploración al agujero meta analizada por minuto durante el primer ensayo de extinción es semejante entre los dos grupos a lo largo del ensayo. La frecuencia total de exploración, la frecuencia a agujeros diferentes al meta, y las exploraciones ponderadas analizadas por minuto son significativamente mayores en el grupo sometido a estrés en los cuatro intervalos del ensayo.
6. Los niveles plasmáticos de corticosterona no fueron significativamente diferentes entre los dos grupos.

El laberinto circular de Barnes es un instrumento desarrollado con el fin de evaluar el aprendizaje y la memoria espacial en roedores. En esta tarea, los animales deben encontrar la ubicación de una salida para escapar de los estímulos aversivos incluidos dentro del arreglo experimental en que se encuentra el laberinto, y para ello disponen de claves extra-laberínticas que optimizan la búsqueda de la salida (Carrillo y cols., 2009). El protocolo de ocho ensayos de adquisición utilizado en el presente experimento mostró

ser suficiente para que los animales aprendieran la tarea espacial del laberinto. La reducción en el tiempo de llegada al agujero meta, en los errores cometidos y en la distancia total recorrida indican la precisión adquirida por los animales a lo largo del entrenamiento para encontrar, cada vez más rápido y de forma más directa, el agujero que les permite acceder a la caja de escape. Además, la reducción gradual en la frecuencia de exploraciones totales y en los errores ponderados, indica que la exploración de los animales fue dirigida preferentemente hacia aquellos agujeros cercanos o al mismo agujero meta. Así mismo, ha sido descrito que este instrumento permite el aprendizaje de la tarea espacial sin producir incrementos en los niveles plasmáticos de corticosterona, efecto que se observa tras exposición a otros estímulos aversivos como la exposición al agua o a la privación de alimento usados en el laberinto acuático de Morris y el laberinto radial, respectivamente (Carrillo, y cols., 2009; Harrison, y cols., 2009; Sunyer, y cols., 2007). Por otro lado, este protocolo fue suficiente para que, veinticuatro horas después, los animales recuperaran la información adquirida durante el entrenamiento. El desempeño en los indicadores de tiempo de llegada a meta, errores cometidos, distancia total recorrida, frecuencia total de exploración y errores ponderados se mantuvo al mismo nivel comparado con el desempeño durante el último ensayo de entrenamiento el día anterior, y asimismo, fue superior en contraste con el desempeño al inicio de la tarea. Estos hallazgos son consistentes con lo descrito en otros trabajos realizados por el grupo de Neurofisiología Comportamental de la Universidad Nacional de Colombia (Torres, 2006; Prado 2009; Vargas-López, 2009; Troncoso, Lamprea, Cuestas, y Múnera, 2010, y Vargas-López, y cols., 2011).

Los resultados del presente experimento también mostraron que veinticuatro horas después de la prueba de retención, el desempeño de los animales de los dos grupos durante el primer ensayo de la extinción fue semejante al observado durante la prueba realizada el día anterior. Es decir, antes de que los animales detectaran por primera vez que ya no podían escapar del laberinto, el tiempo empleado para encontrar la meta fue similar al tiempo observado veinticuatro horas antes. Por lo anterior, el mantenimiento de la información sobre la ubicación de la caja de escape puede conseguirse con una sesión de entrenamiento y una prueba de retención. Esto es consistente con la propuesta de varios autores según los cuales, la exposición al contexto en el cual se presentó el aprendizaje induce un proceso de reconsolidación de

la información previamente adquirida y consolidada. Esta reconsolidación se ha relacionado con un conjunto de cambios moleculares que ocurren tras la reactivación de un recuerdo consolidado (Sara, 2000). Cuando dicho recuerdo es reactivado, la información originalmente codificada puede ser fortalecida, modificada o debilitada dependiendo de las condiciones en las que ocurrió tal reactivación (Sandi, y cols., 2001). Si el contexto de re-exposición es el mismo que el contexto de aprendizaje, entonces la información adquirida y consolidada se fortalecerá. Considerando entonces que en este experimento la prueba de retención ocurre bajo el mismo contexto en el cual se llevó a cabo el aprendizaje original, es posible sugerir que esta prueba fortaleció el recuerdo de la información adquirida sobre la ubicación de la caja de escape.

Por otro lado, este experimento mostró que la exposición a estrés agudo por restricción motora realizada veinticuatro horas después de la prueba de retención, y finalizada treinta minutos antes de la extinción, no alteró el recobro de la información sobre el lugar donde se encontraba el agujero meta, evidenciado por la similitud de la latencia primaria de llegada a meta que mostraron los dos grupos en el primer ensayo de extinción. En relación con lo mencionado previamente, el fortalecimiento de la información dado por la prueba de retención parece prevenir el efecto negativo que se esperaría pudiera tener la exposición a un evento estresante sobre el recobro de la información reconsolidada veinticuatro horas antes. Aunque no es posible afirmar que la prueba de retención sea un sobre-entrenamiento considerando que es una única presentación de ensayo en comparación con ocho ensayos del día anterior, sí es por lo menos una re-exposición al contexto del aprendizaje inicial que lleva a las mismas consecuencias obtenidas en el entrenamiento inicial. En este sentido, el estudio de Torres (2006) mostró que la exposición a estrés agudo por restricción motora mejoró la recuperación de una tarea espacial en el laberinto de Barnes, la cual había sido sobre-entrenada veinticuatro horas antes. Así pues, al parecer, el sobre-entrenamiento y la re-exposición al contexto del aprendizaje inicial fortalecen el recuerdo de la información espacial aprendida y lo hacen menos susceptible a los efectos del estrés agudo.

De forma semejante, el presente estudio mostró que la exposición a la restricción motora tampoco alteró la preferencia de exploración del agujero meta durante el primer ensayo de extinción. En el aprendizaje espacial evaluado en el laberinto acuático de Morris, los roedores son entrenados a nadar en una piscina hasta encontrar una plataforma oculta pero que les permite apoyarse y escapar del nado forzado. Luego del entrenamiento, la plataforma es retirada, y los animales son expuestos nuevamente a la piscina. Típicamente, las ratas sin ningún tratamiento experimental muestran una preferencia de permanencia en el sector donde previamente se encontraba la plataforma de escape (D'Hooge, y de Deyn, 2001; Khaksari, Rashidy-Pour, y Vafaei, 2007). De forma semejante en este experimento, una vez que los animales detectaron la ausencia de la caja de escape, sin importar si habían sido o no expuestos al estrés, mostraron una preferencia por explorar el sector donde se encontraba el agujero que antes les permitía escapar. Esto se evidencia en una cantidad mayor de exploraciones al sector meta (agujero meta y sus adyacentes) respecto del sector de agujeros restantes para cada grupo durante el primer ensayo de extinción, y, extendiendo la discusión presentada en el párrafo anterior, la preferencia por la exploración del lugar donde se hallaba el agujero meta también sería evidencia de un recuerdo fortalecido y poco susceptible a alteraciones ocasionadas por la exposición a un estresor agudo. Esta preferencia por el sector meta del laberinto, se mantiene hasta el ensayo 7 de extinción en el grupo control y hasta el ensayo 6 en el grupo expuesto a estrés, efecto ya descrito por Vargas-López y colaboradores (2011).

El presente experimento mostró también que la ejecución de los animales a lo largo de la extinción fue cambiando de tal forma que: 1) el tiempo de inicio y el tiempo de llegada al agujero meta fue cada vez mayor; 2) la distancia total recorrida, la frecuencia total de exploraciones, la frecuencia de exploraciones al agujero meta y las exploraciones ponderadas se redujeron gradualmente, siendo significativamente menores con respecto al primer ensayo de extinción, así como la reducción gradual en las exploraciones por sector, tanto del sector meta como del sector de agujeros restantes. Estos resultados son consistentes con lo hallado por Vargas-López y colaboradores (2011) quienes expusieron a un grupo de ratas a ocho ensayos de extinción del aprendizaje espacial en el mismo laberinto usado para este experimento. En este estudio, se describió una reducción gradual tanto en la frecuencia total de exploraciones como en la frecuencia de

exploraciones a agujeros diferentes a meta, así como un aumento progresivo en el tiempo empleado para iniciar la tarea y para explorar el agujero meta. Los autores sugieren que el cambio conductual observado no se debe necesariamente a un deterioro en la recuperación del aprendizaje espacial adquirido, sino más bien a una reorganización conductual que ocurre por el cambio ambiental al que fueron expuestos los animales. Esto es también consistente con lo propuesto por Devenport (1984) quien afirma que la experiencia de no-recompensa en el ambiente natural de animales como los roedores es una situación frecuente, y por lo mismo, éstos desarrollan estrategias conductuales para ajustarse a dicha situación. De este modo, considerando que en este experimento los cambios comportamentales observados en estos indicadores fueron semejantes en los dos grupos, la inducción de estrés por restricción motora parece no alterar estos ajustes comportamentales observados por la modificación ambiental dada por la retirada total de la recompensa.

No obstante, aunque los animales expuestos a restricción motora exploraron un número semejante de veces el agujero meta en comparación con el grupo control, la frecuencia de exploraciones totales, así como el número de exploraciones a agujeros diferentes al meta y la distancia total recorrida sí fueron significativamente mayores durante los dos primeros ensayos de extinción. Además, el número de exploraciones para el sector de agujeros restantes también fue mayor durante el tercer ensayo de extinción en el grupo expuesto a estrés. Con el fin de evaluar en detalle el curso de estos cambios en los indicadores de exploración durante el primer ensayo de extinción, éste se dividió en cuatro intervalos de un minuto cada uno. Este análisis mostró que, desde muy temprano en el ensayo, una vez que los animales expuestos a estrés agudo detectaron que no había caja de escape, aumentaron significativamente sus exploraciones a otros agujeros, aún cuando mantuvieron un número semejante de exploraciones al agujero que fue meta en comparación con el grupo control. En conjunto, estos resultados sugieren que los animales expuestos a restricción motora, si bien recuerdan la ubicación del agujero que les conducía a la caja de escape, muestran mayor actividad exploratoria en el laberinto durante los primeros ensayos. Es importante destacar que este aumento en la actividad no fue inespecífico o debido a una alteración locomotora. Esta afirmación se basa en la observación según la cual, la latencia de inicio de exploración fue semejante para los dos grupos de animales durante todos los ensayos de extinción. Otros estudios

que han utilizado la restricción de movimientos como inductor de estrés, también mostraron que el intervalo de treinta minutos entre la finalización de la restricción y el inicio de la tarea es suficiente para recuperar la movilidad total del animal y evitar efectos locomotores inespecíficos (Kofman, Levin, y Alpert, 1995; Sadowski, Jackson, Wiczorek, y Gold, 2009). Finalmente, si la actividad locomotora de los animales expuestos a estrés hubiera sido inespecífica, también se habría encontrado un incremento en las exploraciones al agujero meta y una latencia de inicio menor en comparación con los animales del grupo control, lo cual no ocurrió. De esta manera, es posible sugerir que el aumento temporal en la actividad exploratoria de los animales expuestos a estrés se deba a una facilitación en la búsqueda activa de la recompensa perdida. Según Devenport (1984), la ausencia de reforzamiento aumenta el muestreo en la conducta exploratoria con el fin de aumentar la probabilidad de encontrar la recompensa perdida o una nueva fuente de reforzamiento. Dada la naturaleza del laberinto de Barnes que permite a los animales realizar una conducta exploratoria, la visita a agujeros diferentes al meta y el consecuente aumento en las exploraciones totales y en la distancia total recorrida, estaría explicada por el incremento en el muestreo de nuevos lugares como una conducta adaptativa evolutivamente adquirida. Así pues, los dos grupos realizarían un muestreo en la nueva condición ambiental, y el estrés agudo facilitaría el aumento en la ocurrencia de tal muestreo.

Sin embargo, esta conducta de exploración va reduciéndose a lo largo de los ensayos de extinción. Esto sugiere que durante la extinción ocurre un ajuste conductual que podría involucrar el aprendizaje de una nueva condición. Si se asume que el animal aprendió la expectativa de una recompensa durante el entrenamiento de la tarea espacial, la omisión de ésta provocaría en el animal su búsqueda, y una vez detecta que no es posible recuperarla, se crearía una asociación de tipo inhibitorio en la que la respuesta disminuye porque ahora el contexto señala la ausencia de reforzamiento. En relación con lo propuesto por Rescorla, (2001) y Papini, Wood, Daniel y Norris (2006), la no obtención de la recompensa en el primer ensayo de extinción provocaría un estado emocional aversivo que se asocia con el contexto donde ocurre. De esta manera, la re-exposición al contexto (en los siguientes ensayos de extinción) provocaría la anticipación del estado emocional aversivo experimentado en el primer ensayo, con lo cual el animal

tendería a reducir la respuesta. Considerando que en estudios donde se entrena la extinción de diversas tareas se han encontrado correlatos fisiológicos y conductuales a favor de la ocurrencia de un estado emocional aversivo asociado a la omisión de la recompensa, tales como la elevación de los niveles plasmáticos de corticosterona, la producción de vocalizaciones ultrasónicas e incrementos en conductas agresivas (Papini 2003), este estudio pretendió evaluar específicamente el cambio en los niveles de corticosterona en plasma asociados a la omisión de la recompensa con el fin de apoyar la hipótesis de la ocurrencia de un estado emocional aversivo. Al comparar la concentración de corticosterona del grupo control con los niveles plasmáticos descritos previamente en nuestro laboratorio (Acosta, 2007), no es posible concluir que la exposición a la omisión de la recompensa en el LCB sea suficientemente aversiva para provocar la activación del eje HPA y su consecuente liberación de corticosterona, ya que la concentración encontrada en el presente experimento es semejante a aquella concentración descrita en animales sin tratamiento experimental (Acosta, 2007). Sin embargo, cabe destacar que la actividad del eje HPA tiene una actividad temporal bastante específica de tal forma que el tiempo transcurrido entre la primera exposición a la situación aversiva y la toma de la muestra (75 minutos después del primer ensayo de extinción) no refleje claramente esta sensibilidad temporal. Por ejemplo, en el estudio de Coover y colaboradores (1971b) la elevación significativa de corticosterona plasmática fue encontrada luego del primer ensayo de extinción en una tarea instrumental (Coover y cols., 1971), aunque Kawasaki e Iwasaki (1997) reportan elevaciones sólo hasta ensayos finales en un procedimiento de extinción instrumental. Por lo anterior, es necesario evaluar en estudios posteriores la concentración plasmática de corticosterona en un periodo de tiempo más cercano a la primera exposición de omisión y así determinar si la situación resulta aversiva para el animal.

Ahora bien, considerando que la exposición a la restricción motora provoca la liberación de corticosterona (Acosta, 2007; Dal-Zotto, y cols., 2003), este experimento mostró que los niveles de la hormona liberados por la exposición a la omisión de la recompensa no fueron alterados por la administración del estresor. Es así como los dos grupos mostraron niveles semejantes de concentración de corticosterona, la cual fue evaluada 10 minutos después de terminada la sesión de extinción. Es posible que la no diferencia pudiera deberse al momento en que la toma de la muestra fue realizada. Como se mencionó previamente, la actividad del eje HPA tiene una dinámica temporal bastante

precisa (Sandi, y cols., 2001). Así como transcurrieron aproximadamente 75 minutos entre el inicio de la omisión y la toma de la muestra, el periodo entre la finalización de la restricción motora y la toma de la muestra en el grupo expuesto a estrés fue de aproximadamente 105 minutos, de tal forma que este periodo tan prolongado impide concluir si existe o no alguna interacción entre la exposición al estrés agudo y la situación de omisión de recompensa, considerando que reportes previos de nuestro laboratorio han documentado que la elevación máxima de corticosterona ocurre 30 minutos después de haber iniciado la exposición al estresor agudo por restricción motora pero a los 60 y 90 minutos los niveles plasmáticos de la hormona no son diferentes de los niveles basales (Acosta, 2007).

5. Experimento 2

5.1 Método

5.1.1 Sujetos

Se utilizaron 80 ratas Wistar macho de aproximadamente $469,1 \pm 38,0$ gramos de peso al inicio del experimento (promedio \pm desviación) y 90 días de edad, provenientes de Laboratorios Harlam, (Indianápolis, EUA). Los animales fueron alojados individualmente en cajas de metal y tuvieron acceso libre a agua, pero fueron privados de alimento durante toda la manipulación experimental al 85% del peso adquirido ad libitum. Estuvieron expuestos a las mismas condiciones de control del ciclo luz/oscuridad que los sujetos del experimento 1 y todos los procedimientos experimentales fueron realizados entre las 8:00 a.m. y la 1:00 p.m. El primer y segundo días de inicio de la manipulación experimental fueron obtenidos los pesos promedio de los animales a partir de los cuales, al siguiente día, se dio inicio al programa de privación por reducción de alimento que continuó durante todo el experimento. Se hizo seguimiento de la privación durante siete días para estabilizar la reducción de peso sin poner en riesgo la integridad del animal, y terminado este periodo, se inició el entrenamiento de la tarea.

5.1.2 Instrumentos

La tarea de Contraste Negativo Sucesivo Consumatorio (CSNc) se llevó a cabo en una caja de condicionamiento (Figura 14), consistente en una caja de paredes de acrílico transparente de 26.8 cm de largo x 29.3 cm de ancho x 21.3 cm de alto, ubicada dentro de una caja de madera para aislarla de sonidos externos. En el interior de la caja de acrílico se encuentra instalado un bombillo con luz tenue y difusa a 18 cm del suelo y un sonido blanco de 80 dB y un ventilador para extracción de olores. El suelo de la caja de condicionamiento contiene barras de aluminio de 0.4 cm de diámetro cada una separadas a una distancia de 1.1 cm. En el centro de una de las paredes de acrílico se encuentra un agujero de 5 cm de diámetro, elevado a 1 cm del suelo, que permite la entrada de un tubo (2cm) que conecta

con un bebedero que contiene la solución para ser consumida por la rata. La entrada del tubo del bebedero está contralada por un sistema de programación automática. A 2 mm de la punta del tubo del bebedero se encuentra instalada una fotocelda que, al ser interrumpida por la lamida del animal, envía al computador, por medio de una interfaz, el tiempo acumulado de consumo de sacarosa en 0.01 segundos.



Figura 14. Caja de condicionamiento adaptada para el entrenamiento de tareas consumatorias usando un mecanismo automático de introducción del bebedero.

5.2.3 Procedimiento

Terminados los siete días de privación se inició el procedimiento experimental. Días 1 a 10: Entrenamiento de consumo de sacarosa. Los animales fueron entrenados para consumir una solución de sacarosa al 4% o 32% según el grupo experimental. Para ello, cada día fueron transportados desde la caja hogar hasta la sala experimental e introducidos en la caja de condicionamiento. La sesión comenzó cuando se encendió la luz de la caja de madera. Luego de un tiempo variable entre diez y treinta segundos, se introdujo automáticamente la punta del bebedero que permitió el consumo de la solución durante cinco minutos contados a partir de la primera lamida. El control de la luz y la entrada del bebedero se controlaron desde una sala diferente a la experimental. Terminados los cinco minutos, el bebedero se retrajo y los animales fueron retirados y transportados a su caja hogar donde se les proporcionó la cantidad de alimento necesaria para mantener su peso entre el 81% y 85% de su peso ad libitum.

Día 11: Devaluación de la recompensa y toma de muestras. La condición de esta fase fue la omisión de la recompensa por contraste entre dos soluciones. Los animales

fueron transportados a la caja de condicionamiento y todos estuvieron expuestos a una solución de 4% de sacarosa durante cinco minutos. Terminado este ensayo, los animales fueron regresados a su caja hogar.

Diez minutos después, aquellos animales asignados a la condición de toma de muestra fueron transportados a una sala de cirugía. La toma, obtención y almacenamiento de las muestras fueron idénticos a los descritos para el experimento 1.

Aquellos animales no asignados a la condición de toma de muestra fueron regresados a su caja hogar para continuar con la devaluación de la recompensa durante cuatro días adicionales con el fin de evaluar si la inducción de estrés alteró la recuperación del contraste.

Días 12 a 15: Devaluación de la recompensa. Las sesiones experimentales fueron idénticas al día 11 y todos los animales continuaron recibiendo 4% de sacarosa durante cinco minutos por día.

La sala experimental donde fue corrido el experimento contenía cuatro cajas de condicionamiento por lo cual los animales fueron entrenados por cuádruplas. Los 4 animales de una cuádrupla cualquiera fueron asignados a condiciones diferentes, y dado que fueron corridas varias cuádruplas por día, el orden de entrenamiento diario fue contrabalanceado. Las cajas de condicionamiento fueron limpiadas con agua en el intervalo de tiempo entre entrenamiento de cuádruplas. Antes de iniciar cada día experimental, se prepararon las soluciones de sacarosa diluyendo 320 gramos de azúcar comercial en 780 mL de agua destilada (32%) o 40 gramos en 960 mL (4%).

5.1.4 Inducción de estrés

Los animales asignados a la condición de estrés fueron transportados desde la caja hogar hasta una cabina aislada antes de iniciar la sesión experimental del día 11. Posteriormente fueron introducidos, durante una hora, en un tubo de PVC de 22 cm de longitud y 5,5 cm de diámetro que impidió el desplazamiento dorso-ventral de los animales. Terminado este periodo fueron regresados a la caja hogar, y treinta minutos después se inició la fase experimental. En la Figura 15 aparece descrito el diseño general de este experimento.

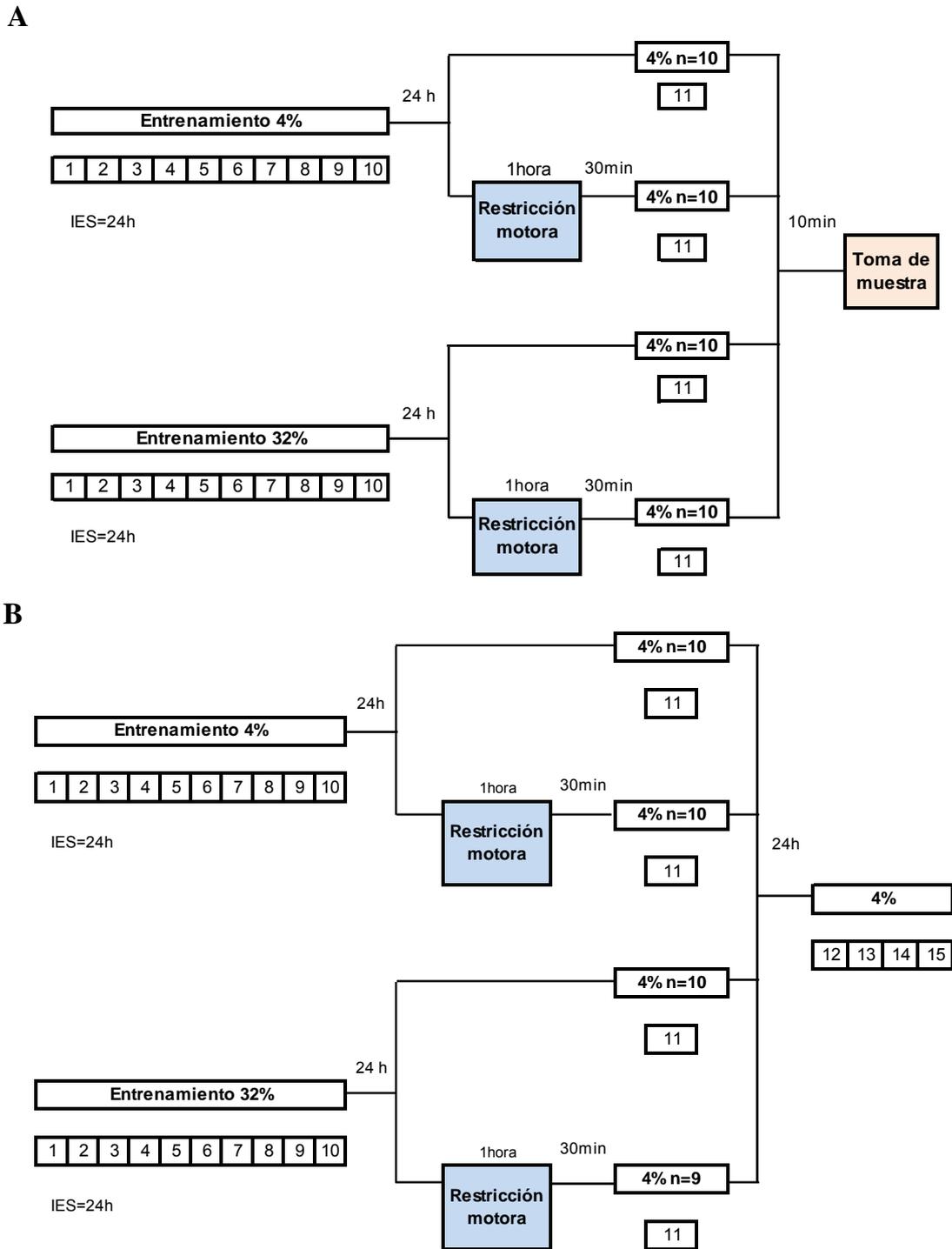


Figura 15. Procedimiento seguido para cada grupo experimental. A: animales evaluados hasta el día 11 y toma de muestras. B: animales evaluados hasta el día 15

5.1.5 Análisis de concentración de corticosterona en plasma

El análisis de concentración de corticosterona en plasma usando el kit ELISA, la proporción de dilución de las muestras, y la transformación de la concentración para una unidad final de ng/ml fueron los mismos que en el experimento 1. El cálculo de la concentración a partir de la absorbancia fue calculado automáticamente por una máquina lectora (vMAXkinetic microplate reader, Molecular Devices, Sunnyvale, CA) a 405 nm de longitud de onda con corrección de 595nm.

5.1.6 Consideraciones éticas

Las condiciones de alojamiento, la totalidad de los procedimientos experimentales y la disposición de los residuos biológicos y químicos se realizaron de conformidad con la sección 8.09 de los Principios Éticos de los psicólogos y el Código de Conducta de la American Psychological Association, y la Guía del Comité de Investigación Animal (ARAC) de los Institutos Nacional de Salud de los Estados Unidos (NIH). Con respecto a la aplicación de las normas anteriormente citadas, cabe hacer las siguientes aclaraciones: (1) Todos los procedimientos experimentales fueron sometidos a la consideración del Comité de Ética de conformidad con la AALAS (American Association for Laboratory Animal Science). (2) Se garantizó que todo el personal encargado del cuidado y manejo de los animales de experimentación tuviera conocimiento y experiencia de los procedimientos. (3) Al final de los procedimientos de evaluación comportamental, los animales cuyas muestras de sangre no se requirieron, fueron sacrificados en cámaras de gas. (4) Para garantizar la seguridad de los investigadores, la manipulación de los residuos contaminados producidos durante la experimentación se realizó usando bata, gorro, guantes de nitrilo, tapabocas y gafas de protección. (5) Los cadáveres de los animales usados en esta investigación fueron dispuestos según el procedimiento de eliminación de residuos biológicos de la Facultad de Ciencias de la Texas Christian University.

5.1.7 Tipo de Investigación y Diseño

Esta investigación es de tipo experimental e incluye dos variables independientes: Estrés (no estrés y estrés) y Contraste (sin devaluación o 4%, y con devaluación o 32%)

para un diseño factorial 2 x 2. La variable dependiente evaluada fue el tiempo acumulado de lamida durante cinco minutos. La Figura 16 muestra el número de sujetos por cada tratamiento.

	Control	Estrés
4%	n=10	n=10
4% + muestra	n=10	n=10
32%	n=10	n=10
32% + muestra	n=10	n=10

Figura 16. Condiciones experimentales y número de animales asignados a cada una.

5.1.8 Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza ANOVA de dos vías de medidas repetidas comparando ensayo y porcentaje de sacarosa durante la fase de entrenamiento de consumo. Se usaron medidas paramétricas o no paramétricas según si los datos pasaban o no las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas. El análisis pos hoc usado fue Holm-Sidak o Tukey dependiendo si el análisis fue o no paramétrico. Para los datos obtenidos en los ensayos de devaluación se realizó análisis de varianza ANOVA de dos vías con estrés y contraste como factores para cada ensayo. El análisis pos hoc usado fue Holm-Sidak o Tukey según el caso. Para comparar las diferencias en los niveles de concentración de corticosterona entre los grupos, se usó ANOVA de dos vías considerando estrés y contraste como factores. Finalmente, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre los niveles de corticosterona y el tiempo acumulado de consumo del día 11 para cada grupo. Para realizar estos análisis se utilizó el programa estadístico SIGMASTAT 3.5. Los gráficos de las medidas calculadas fueron diseñados en Microsoft® Office 2007 y representan el promedio y error estándar de la media (SEM). Para todas las pruebas el nivel de significancia estadística fue establecido para las probabilidades menores o iguales a 0,05.

5.2 Resultados

Uno de los animales tuvo que ser excluido del estudio (grupo 32% estrés) porque se lastimó los dientes mientras consumía el alimento sólido entregado luego del día de

entrenamiento, lo cual le impidió continuar consumiendo sacarosa del tubo de la caja experimental.

5.2.1 Procedimiento A: Devaluación y toma de muestra

La Figura 17 presenta los resultados de tiempo acumulado de consumo para los animales evaluados hasta el día 11. Al evaluar el tiempo de consumo durante el entrenamiento de la tarea (días 1 a 10) se encontraron efectos estadísticamente significativos para el factor ensayo ($F_{(3,9)}=59,017$; $P < 0,001$) e interacción grupo X ensayo ($F_{(3,9)}=2,444$; $P < 0,001$) pero no para factor grupo ($F_{(3,9)}=0,929$; $P = 0,436$). Los análisis pos hoc indican que el tiempo de consumo durante el último día de entrenamiento fue significativamente mayor con respecto al día 1 para cada grupo. Por otro lado, los animales entrenados para consumir 32% de sacarosa consumieron durante más tiempo en el día 1 de entrenamiento en comparación con los animales entrenados con sacarosa al 4%, pero esta diferencia estadística no se encontró para los demás ensayos. Durante los días 1 a 10, los animales que consumieron la solución de 32% asignados a la condición estrés en el día 11 tuvieron un tiempo de consumo no significativamente mayor de aquellos animales entrenados para consumir 32% asignados a la condición no-estrés en el día 11 ($q=1,656$; $P = 0,649$); de forma semejante, el grupo 4%-estrés mostró un tiempo de consumo no significativamente mayor que el grupo 4% no-estrés a lo largo del entrenamiento ($q=0,662$; $P = 0,966$).

Al evaluar el tiempo de consumo en el día de la devaluación (día 11) los animales del grupo 4% no-estrés mostraron un tiempo de consumo semejante al día anterior ($t_{(9)}=1,127$; $P = 0,289$). Además, no se encontraron efectos significativos para el factor estrés ($F_{(1,1)}=0,534$; $P = 0,470$), ni para la interacción estrés X contraste ($F_{(1,1)}=0,598$; $P = 0,444$) pero sí para el factor contraste ($F_{(1,1)}=143,780$; $P < 0,001$). Los análisis pos hoc indican que la restricción motora no tuvo efecto sobre el tiempo de consumo para los animales no devaluados (4% estrés vs. 4% no-estrés), ni para los animales devaluados (32% estrés vs. 32% no-estrés). Asimismo, los animales devaluados a 4% de sacarosa redujeron significativamente su tiempo de consumo con respecto a los animales no devaluados.

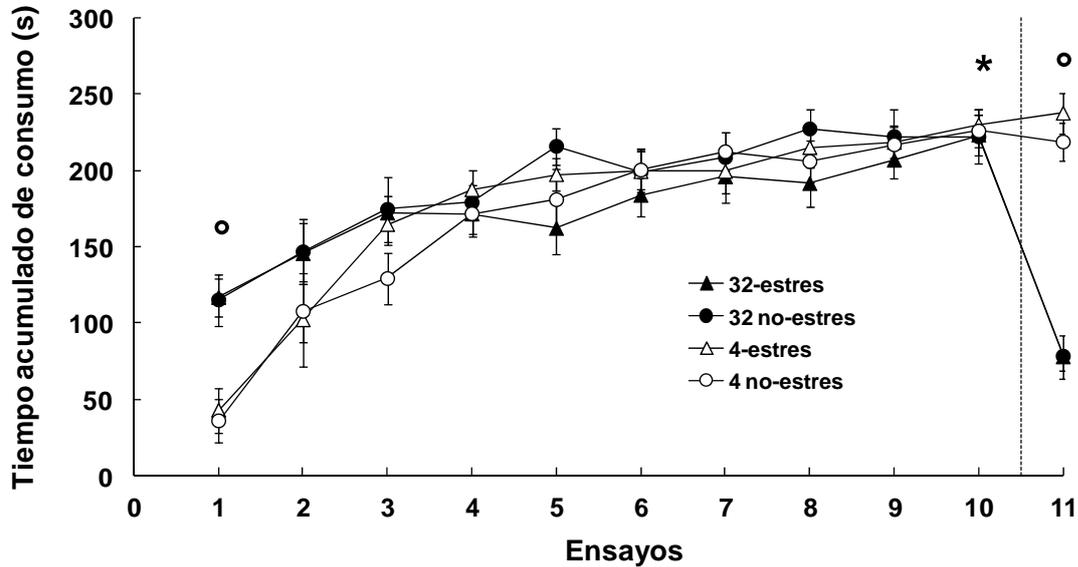


Figura 17. Promedio (\pm SEM) de tiempo acumulado en segundos de consumo de sacarosa durante el entrenamiento y el ensayo de devaluación para los animales entrenados hasta el día 11. La línea vertical punteada representa la inducción de la restricción motora antes de la sesión experimental de devaluación. (*) $p < 0,05$ con respecto al día 1 de entrenamiento para todos los grupos. (°) Representa diferencia entre 32% y 4%, $p < 0,05$

La comparación entre los niveles de corticosterona plasmática arrojó un efecto significativo por factor estrés ($F_{(1,1)}=8,804$; $P = 0,005$), pero no por factor contraste ($F_{(1,1)}=2,606$; $P = 0,115$) ni interacción estrés X contraste ($F_{(1,1)}=0,029$; $P = 0,865$). Un análisis estadístico más detallado mostró que los animales expuestos a restricción motora evidenciaron elevaciones significativamente menores de corticosterona respecto a aquellos animales sin estrés comparando tanto animales devaluados (32%, $U=21$, $p < 0,05$) como aquellos sin devaluación (4%, $U=21$, $p=0,031$, Figura 18).

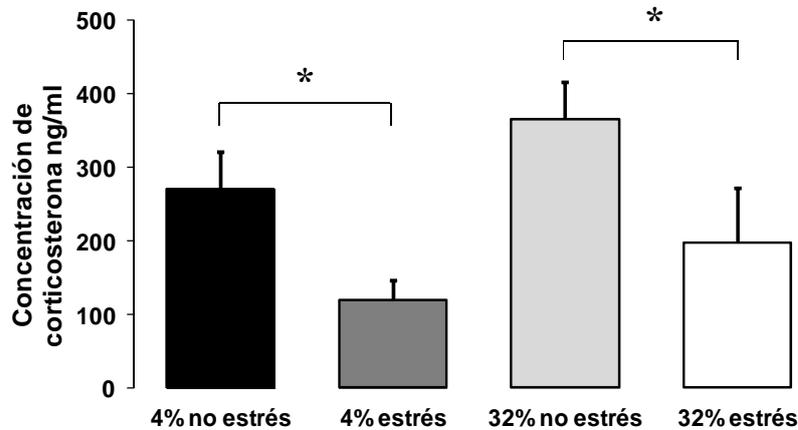


Figura 18. Promedio (\pm SEM) de concentración de corticosterona plasmática (ng/mL) en los cuatro grupos experimentales del procedimiento A de contraste. * $p < 0,05$

Finalmente, los análisis de correlación entre los niveles de concentración de corticosterona y el tiempo acumulado de consumo durante el ensayo de devaluación de la sacarosa no mostraron alguna relación estadísticamente significativa. En la siguiente tabla se resumen los coeficientes de correlación r y el valor p de cada comparación.

Grupo	Coefficiente de correlación r	p
4% no estrés	0,270	0,450
4% estrés	0,288	0,419
32% no estrés	0,222	0,538
32% estrés	-0,194	0,592

Tabla 1. Coeficientes de correlación r y valor p entre nivel de concentración de corticosterona plasmática y el tiempo acumulado de consumo en el día 11 para cada grupo experimental.

5.2.2 Procedimiento B: Devaluación hasta día 15

El desempeño de los grupos experimentales evaluados hasta el día 15 para observar los posibles efectos del estrés en días siguientes a la devaluación puede observarse en la Figura 19. El análisis estadístico durante el entrenamiento de la tarea (días 1 a 10) muestra efectos para el factor ensayo ($F_{(1,9)}=70,562$; $P < 0,001$) e interacción porcentaje X ensayo ($F_{(1,9)}=1,579$; $P = 0,037$) pero no para factor porcentaje ($F_{(1,9)}=0,125$; $P = 0,945$). Los análisis pos hoc indican que el tiempo de consumo en el día 10 de entrenamiento es significativamente mayor con respecto al día 1 para cada grupo. Adicionalmente, en el día 1 los animales entrenados con la solución de 32% consumieron significativamente durante más tiempo que aquellos entrenados para consumir 4% de

sacarosa. Durante los demás días de entrenamiento, todos los grupos consumieron en tiempos no significativamente diferentes. De forma semejante al procedimiento A, aquellos animales que fueron asignados a la condición de estrés en el día 11 (32%-estrés y 4%-estrés) consumieron en tiempos no significativamente diferentes a sus respectivos grupos de comparación (32% no-estrés y 4% no-estrés) durante el entrenamiento de la tarea. ($q=0,579$; $P = 0,977$ 32%-estrés vs. 32% no-estrés; $q=0,544$; $P = 0,980$ 4%-estrés vs. 4% no-estrés).

En el día 11 de devaluación los animales del grupo 4% no-estrés mostraron un tiempo de consumo semejante al día anterior ($t_{(9)} = 1,849$; $P = 0,097$). Comparando todos los grupos el efecto encontrado fue para el factor contraste ($F_{(1,1)}=119,174$; $P < 0,001$) pero no para estrés ($F_{(1,1)}=0,591$; $P = 0,447$) ni para la interacción estrés X contraste ($F_{(1,1)}=0,0006$; $P = 0,980$). Los análisis pos hoc evidencian que la inducción de estrés no afectó el tiempo de consumo de los animales no devaluados. Asimismo, no tuvo efecto sobre el tiempo de consumo de los animales devaluados respecto a aquellos devaluados sin estrés (32%-estrés vs. 32% no-estrés). De forma semejante al procedimiento A, los animales expuestos a la devaluación de la recompensa consumieron significativamente menos tiempo que aquellos sin devaluación.

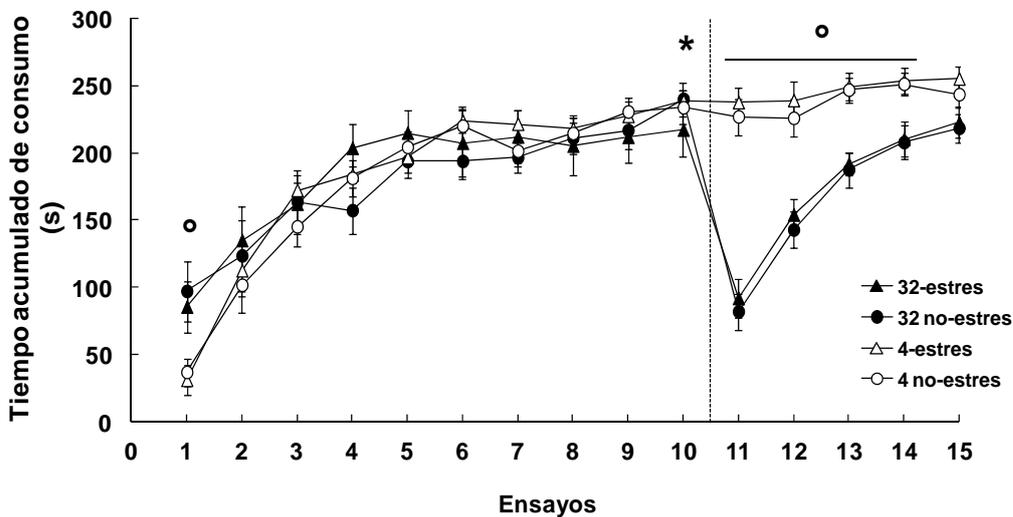


Figura 19. Promedio (\pm SEM) de tiempo acumulado en segundos de consumo de sacarosa durante el entrenamiento y el ensayo de devaluación para los animales entrenados hasta el día 15. La línea vertical punteada representa la inducción de la restricción motora antes de la sesión experimental de devaluación. (*) $P < 0,05$ con respecto al día 1 de entrenamiento para todos los grupos. (°) Representa diferencia entre 32% y 4%, $P < 0.05$

Por otro lado, durante los días 12 a 14 de devaluación no se encontraron efectos por factor estrés ni de interacción estrés X contraste sobre el tiempo acumulado de consumo, pero sí por factor contraste (Día 12: estrés, $F_{(1,1)}=0,802$; $P = 0,377$; contraste, $F_{(1,1)}=38,268$; $P < 0,001$; estrés X contraste, $F_{(1,1)}=0,005$; $P = 0,941$. Día 13: estrés, $F_{(1,1)}=0,106$; $P = 0,747$; contraste, $F_{(1,1)}=30,205$; $P < 0,001$; estrés X contraste, $F_{(1,1)}=0,006$; $P = 0,936$. Día 14: estrés, $F_{(1,1)}=0,0435$; $P = 0,836$; contraste, $F_{(1,1)}=14,854$; $P < 0,001$; estrés X contraste, $F_{(1,1)}=0,000076$; $P = 0,993$). Los análisis pos hoc de estos tres días evidenciaron que los animales expuestos a devaluación consumen significativamente menos tiempo que los animales expuestos siempre a 4% de sacarosa. Estos resultados indican que el contraste continuó teniendo un efecto hasta el día 14 sobre el tiempo de consumo. Para el día 15, no se encontraron efectos significativos por factor estrés ($F_{(1,1)}=0,572$; $P = 0,455$) ni de interacción estrés X contraste ($F_{(1,1)}=0,125$; $P = 0,726$), pero sí por factor contraste ($F_{(1,1)}=7,529$; $P = 0,010$). De forma interesante, los análisis pos hoc indicaron que los animales devaluados sin estrés (32% no-estrés) consumieron la solución de sacarosa en tiempos no significativamente menores a los animales sin devaluación y sin estrés (4% no-estrés). Sin embargo, los animales devaluados que tuvieron estrés en el día 11 continuaron consumiendo significativamente menos tiempo que los animales bajo estrés sin devaluación.

Considerando que la manipulación experimental fue la misma para los procedimientos A y B hasta el día 11, se verificó que los animales de cada condición en el procedimiento A tuvieran tiempos de consumo semejantes a los animales de su condición respectiva en el procedimiento B. Para la condición 4% no-estrés no se encontró efecto por grupo ($F_{(1,10)}=0,403$; $P = 0,533$) ni por interacción grupo X ensayo ($F_{(1,10)}=0,404$; $P = 0,944$). Para la condición 4% estrés no se encontraron efectos de consumo por grupo ($F_{(1,10)}=0,211$; $P = 0,651$) ni de interacción grupo X ensayo ($F_{(1,10)}=0,578$; $P = 0,831$). Tampoco se encontraron efectos por factor grupo ($F_{(1,10)}=617$; $P = 0,443$) o interacción grupo X ensayo ($F_{(1,10)}=0,280$; $P = 0,985$) para las condiciones 32% no-estrés, ni 32% estrés (factor grupo $F_{(1,10)}= 0,438$; $P = 0,517$; interacción grupo X ensayo $F_{(1,10)}=1,271$; $P = 0,250$). De esta manera, los tiempos de consumo no difieren significativamente entre los grupos del procedimiento A y sus respectivos grupos de comparación del procedimiento B.

5.3 Discusión

Los resultados observados tras la disminución de la concentración de sacarosa en la tarea de contraste sucesivo negativo consumatorio pueden ser resumidos como sigue:

1. Los animales asignados a la condición de 32% mostraron un incremento significativo en el tiempo de consumo en relación con aquellos animales asignados a la condición de 4% durante el primer ensayo, pero para el último día de entrenamiento, todos consumieron la solución de sacarosa durante un tiempo semejante, independientemente del porcentaje de la solución.
2. Todos los grupos mostraron incrementos en el tiempo acumulado de consumo durante el último día de entrenamiento respecto al primero.
3. Los animales que fueron expuestos a devaluación de la recompensa mostraron una reducción significativa en el tiempo acumulado de consumo en comparación con los animales no devaluados. Esta diferencia se encontró durante el primer ensayo de devaluación y ensayos posteriores.
4. El estrés por restricción motora no alteró los tiempos acumulados de consumo ni para los animales devaluados ni para los no-devaluados.
5. Pasados cuatro días de la devaluación de la recompensa (día 15) los animales de los grupos con y sin inducción de estrés recuperan la conducta consumatoria a niveles semejantes a los observados durante el entrenamiento.
6. Los niveles plasmáticos de corticosterona no fueron diferentes entre los animales devaluados y aquellos que mantuvieron su exposición a 4% de sacarosa, pero sí fueron significativamente menores en aquellos animales expuestos a estrés en comparación con aquellos que no fueron restringidos en el tubo de inmovilización.

Considerando que en este experimento se dividieron los animales en dos procedimientos para continuar evaluando el contraste en los días siguientes a la devaluación, se verificó que el tiempo acumulado de consumo fuera semejante en todos los ensayos de tratamiento experimental comparando cada grupo del procedimiento A con su respectivo grupo del procedimiento B. De este modo, los resultados evidenciaron que los animales asignados a la condición de 4% no-estrés en el procedimiento A consumieron durante un tiempo semejante la solución de sacarosa presentada en comparación con los animales de la misma condición en el procedimiento B. Esta similitud se evidenció desde el primer ensayo hasta el día 11 en que los animales del procedimiento A fueron sacrificados para tomar la muestra de sangre. Estas mismas comparaciones se mantuvieron para las demás condiciones, a saber, 4% estrés, 32% no-estrés, y 32% estrés. Asimismo, los resultados observados en el procedimiento A fueron replicados en el procedimiento B. Por lo anterior, los resultados a continuación discutidos serán considerados sin distinguirlos por procedimiento.

En primer lugar, se evidenció en este experimento que durante el primer ensayo de entrenamiento, los animales asignados a la condición de 32% consumieron significativamente más tiempo la solución presentada en comparación con los animales expuestos a la solución de 4%, pero el tiempo de consumo fue semejante en todos los grupos al finalizar el entrenamiento. Asimismo, todos los animales consumieron significativamente durante más tiempo en el último día de entrenamiento respecto al primero. Esto replica los hallazgos previos en tareas de contraste negativo consumatorio que han utilizado animales y procedimientos semejantes a los empleados en el presente estudio (Flaherty, 1996; Bentosela, y cols., 2006; Pecoraro, y cols., 2009; Ruetti, y cols., 2009), y en los cuales se ha concluido que el aumento significativo en el tiempo de consumo durante el último día de entrenamiento es un indicador de aprendizaje de la tarea consumatoria.

Para el día 11 en que se realizó la inducción de estrés y la reducción de la concentración de sacarosa, se verificó que los animales en la condición de no-devaluación mantuvieran un tiempo de consumo semejante al del día anterior. Así pues, los resultados indican que los animales expuestos a la condición 4% no-estrés mostraron tiempos acumulados de consumo semejantes a aquellos observados el día anterior.

Como se ha encontrado en reportes previos de CSNc usando sacarosa, en este experimento se encontró que los animales expuestos a devaluación consumieron significativamente por menos tiempo la solución de 4% durante los días 11 a 14 de devaluación. Una de las teorías más conocidas que ha intentado explicar esta reducción es la teoría de frustración de Amsel (1992) considerada en experimentos previos usando el mismo protocolo de entrenamiento y devaluación seguido en el presente estudio (Papini, 2003; Bentosela, y cols., 2006; Papini, y cols., 2006; Pecoraro, y cols., 2009; Ruetti, y cols., 2009). Esta teoría propone que: 1) la disminución del consumo, observada durante el primer ensayo de devaluación, provocaría una respuesta incondicionada aversiva o frustración primaria explicada por la ruptura de la expectativa del animal aprendida durante el entrenamiento; y 2) la disminución del consumo observada en los ensayos posteriores se explicaría por la anticipación del estado de frustración provocado en el primer ensayo de contraste y que el animal tiende a evitar. Durante el entrenamiento, los animales aprenden a predecir y esperar la solución de 32%. Cuando ésta no es presentada, y los animales reciben menos de lo esperado, reaccionan rechazando la nueva solución por ser de menor valor. Esta respuesta incondicionada y emocionalmente negativa se condiciona al contexto, de tal forma que la exposición a éste en ensayos posteriores provoca la misma reacción emocional experimentada en el primer ensayo, y que el animal anticipa y tiende a evitar. Este supuesto explicaría la persistencia temporal en la reducción del consumo en algunos ensayos posteriores a la devaluación. En este experimento consistente con lo anterior, la reducción en la recompensa esperada provocó una disminución significativa en el tiempo de consumo, la cual se mantiene hasta el ensayo 14.

Respecto a la inducción de estrés agudo por restricción de movimientos, en este experimento se encontró que la inmovilización no tuvo ningún efecto sobre el tiempo acumulado de consumo en los animales devaluados de 32% a 4% ni en el primer ensayo de devaluación ni en los siguientes ensayos. Dado que tampoco tuvo un efecto sobre el consumo de los animales sin devaluación, parece que este tipo de estresor no afecta la respuesta de consumo en sí misma. Considerando que no fue posible evaluar otros comportamientos dentro de la caja de condicionamiento durante las sesiones experimentales, no es posible asegurar que la restricción motora no haya tenido ningún efecto sobre otras conductas que pueden ocurrir durante la sesión experimental. Este

análisis adicional permitiría evaluar de manera más completa el comportamiento total durante los cinco minutos de exposición a la caja, teniendo en cuenta que el tiempo de consumo fue de $224,02 \pm 5,957$ segundos durante el último día de entrenamiento, y de $78,04 \pm 8,855$ segundos durante el día de la devaluación para los animales devaluados a 4%, ya que aún no se ha esclarecido completamente a qué tipo de mecanismos explicativos pueden atribuirse las actividades que realizan los sujetos mientras no consumen la solución del tubo (por ejemplo olfatear, levantarse en dos patas, producir vocalizaciones ultrasónicas), y menos aún los posibles efectos que pueda tener la presentación de un estresor agudo sobre tales actividades.

En los estudios que han evaluado la recuperación del contraste, es decir, el recobro del tiempo de consumo a niveles semejantes al último día de entrenamiento, se ha encontrado de forma consistente que los animales devaluados tardan entre 3 y 4 días (un ensayo diario de 5 minutos) para llegar a niveles de consumo semejantes a aquellos que no fueron expuestos a devaluación (véase la revisión de Flaherty, 1996, capítulo 2; Bentosela, y cols., 2006; Ruetti, y cols., 2009). En este experimento se replicó este hallazgo, pues los sujetos expuestos a reducción de la concentración de sacarosa mostraron un tiempo de consumo no significativamente menor a aquellos animales sin devaluación durante el ensayo 15, luego de cuatro días de devaluación. Asimismo, la inducción de restricción motora no alteró este patrón de recuperación del contraste, lo cual se evidencia en la similitud entre el tiempo acumulado de consumo del grupo 32% estrés respecto al grupo 32% no-estrés. La teoría de frustración de Amsel supone que esta recuperación del contraste ocurre porque los animales continúan siendo recompensados durante los ensayos de devaluación, de tal forma que, aunque el segundo ensayo provoca un conflicto de aproximación a la recompensa y evitación a la re-experimentación del estado de frustración del primer ensayo, el acceso predecible a la nueva recompensa reduce progresivamente la evitación y aumenta gradualmente la aproximación al consumo. De esta manera, el estrés pareciera no modificar ni la codificación inicial del cambio en la recompensa, ni la consolidación de esta información, por lo cual podría sugerirse que el estrés agudo no modifica la detección de una situación negativa ni su posterior recobro.

Finalmente, en este experimento se encontró que las concentraciones plasmáticas de corticosterona no se elevaron significativamente por la exposición a la devaluación de la recompensa, es decir, el grupo 32% no-estrés no tuvo niveles significativamente mayores que aquellos animales siempre expuestos a la solución de sacarosa al 4% no-estrés. Esto es opuesto a lo descrito por Pecoraro y cols. (2009), y consistente con lo descrito por Mitchell y Flaherty (1998). En el primer estudio, los animales fueron entrenados durante 12 días para consumir 4% o 32% de sacarosa. Luego, a los animales expuestos a la condición de 32% se les redujo la concentración de sacarosa a 4%, y diez minutos después de terminado el ensayo, fue tomada la muestra de sangre. Estos autores encontraron que los niveles de corticosterona plasmática fueron significativamente mayores en los animales expuestos a devaluación en comparación con aquellos que siempre estuvieron expuestos a la condición de 4%. Por el contrario, en el segundo estudio los animales fueron expuestos a los mismos porcentajes de solución, y fueron entrenados durante 10 días. Al onceavo día los animales previamente entrenados para consumir 32% fueron expuestos a 4% de sacarosa, y la muestra fue tomada 10 minutos después de terminado este ensayo. Los resultados evidenciaron que los animales expuestos a devaluación no mostraron niveles plasmáticos de corticosterona significativamente mayores a los niveles de concentración de aquellos animales sin reducción de sacarosa. Según los autores de este estudio, la primera exposición a la solución devaluada provoca inicialmente una búsqueda de la solución originalmente entrenada, y no la activación emocional inmediata que sugiere Amsel. Esta búsqueda no implica ninguna activación emocional, ya que dicha búsqueda en la caja experimental sería comparable a la conducta de forrajeo que muestran los roedores en ambientes naturales, la cual no está relacionada con alguna activación emocional particular. Sólo hasta el segundo ensayo de devaluación, luego de que la búsqueda ha fallado, se iniciaría una respuesta de estrés, cuya consecuencia es la liberación plasmática de corticosterona y la activación de sus receptores de membrana y citoplasmáticos distribuidos en diferentes regiones cerebrales (Reul, y de Kloet, 1984; Lupien, y McEwen, 1997; Sandi, y cols., 2001). Algunas estructuras cuyos receptores para glucocorticoides podrían estar siendo estimulados en la situación de devaluación incluyen el hipocampo, la amígdala, y en primates, la corteza prefrontal medial según Pecoraro, y Dallman, (2009) y Herman (2009), ya que son estructuras implicadas en la codificación contextual y la consolidación de información emocional requeridas en la tarea de contraste negativo

consumatorio (Daniel, Wood, Pellegrini, Norris, y Papini, 2008). Todas estas estructuras proyectan hacia el núcleo del lecho de la stria terminalis cuyos cuerpos celulares son GABAérgicos y proyectan al núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV) controlando la actividad del eje HPA. Lo anterior sugeriría que la activación y modulación del eje HPA solo ocurre luego de la detección de una situación amenazante, que según Mitchell y Flaherty ocurre en el segundo ensayo, y lo cual explicaría por qué no se encontraron diferencias en los niveles plasmáticos de corticosterona en el presente estudio, en comparación con lo observado en el segundo ensayo de devaluación descrito en otros estudios (Mitchel, y Flaherty, 1998; Pecoraro, y cols., 2009).

Ahora bien, este experimento mostró que la restricción motora redujo significativamente los niveles de corticosterona plasmática en los animales expuestos a estrés agudo. Es posible que esta reducción se deba, o bien a la interacción entre la actividad del eje HPA dada por la exposición a estrés y su activación por la exposición a la tarea consumatoria, o bien a una desregulación del eje debido a la exposición crónica de privación de alimentos, además de la exposición crónica al aislamiento social al que fueron mantenidos los animales durante todos los procedimientos, considerando que las dos situaciones son estresantes en tanto que la primera se conoce como un estresor biológico, y la segunda como estresor psicológico (Sandi, y cols., 2001; Herman, 2009).

Por un lado, se sabe que la actividad del eje HPA implica no solo la liberación de glucocorticoides sino también su propia regulación. Como ya se mencionó, los glucocorticoides se unen a sus receptores en diversas estructuras del cerebro. El control inhibitorio sobre el eje parece deberse 1) a la proyección excitatoria del hipocampo y áreas prefrontales hacia el núcleo del lecho de la stria terminalis de tal forma que estimulen la proyección de terminales GABAérgicas hacia el NPV reduciendo así su activación; y 2) a la proyección inhibitoria del septum lateral hacia estructuras excitatorias que proyectan al NPV (Herman, 2009). De esta manera, la exposición a estrés en este experimento provocaría la liberación de glucocorticoides y su consecuente regulación. Ahora bien, aunque no se ha probado que la exposición a la tarea de consumo sea intrínsecamente activadora luego de varios días de entrenamiento, la concentración encontrada en este experimento (269,71 ng/mL) en animales sin devaluación (4%NoE) sugiere que existe algún tipo de activación fisiológica relacionada con la tarea consumatoria, considerando que la literatura previa ha reportado concentraciones basales entre 20 ng/mL y 40 ng/mL de corticosterona en ratas (Sorg, Bailie, Tschirgi, Li,

Wu, 2001; Stamp, Mashoodh, van Kampen, Robertson, 2008). Dado lo anterior, si la tarea es en sí misma activadora, provocaría la liberación de glucocorticoides; ahora, si el eje ya está activado por la exposición a estrés, la consecuencia sería que los glucocorticoides liberados por la exposición a la tarea fortalecerían el control inhibitorio que ya se habría iniciado por el estrés agudo, de tal forma que los niveles de corticosterona observados en los animales bajo estrés esté reflejando la retroalimentación negativa del eje.

Por otro lado, en la revisión presentada por Dallman y colaboradores (2006) acerca del papel de los glucocorticoides en la regulación del eje HPA, se afirma que la exposición crónica a glucocorticoides reduce la actividad del eje y deteriora su respuesta ante estresores agudos, requiriendo una estimulación mayor para que el eje sea activado. Además se sugiere que, dado que ratas adrenalectomizadas eligen entre dos soluciones apetitivas o agradables, aquella que les provee más calorías, es posible que el consumo de alimentos con alto contenido calórico antes o durante periodos estresantes, reduzca las respuestas del eje HPA ante la presentación de un estresor (Dallman, y cols., 2006). Por lo anterior, también es posible que la disminución en los niveles plasmáticos de corticosterona de los grupos expuestos a estrés refleje la actividad del eje (posiblemente desregulada por la exposición crónica a privación alimenticia y aislamiento social) como respuesta a la interacción entre la inducción del estrés agudo y el consumo de una solución que tiene valor calórico, que según Dallman y colaboradores (2006) reduce la respuesta del eje HPA y por lo tanto la liberación de corticosterona.

6. Discusión general y Conclusiones

La respuesta de estrés se consideró, durante las primeras décadas de su estudio a partir de la descripción del síndrome general de adaptación descrito por Selye en 1936, como un factor negativo en la fisiología de los organismos a partir de los efectos deletéreos encontrados en el sistema inmunológico, digestivo y cardiovascular asociados a esta condición. Sin embargo, esta afirmación se estableció con base en varios estudios donde la exposición a estímulos o situaciones estresantes era crónica o repetida. En la actualidad, muchos grupos de investigación han descrito que la relación entre la respuesta de estrés y el organismo es más compleja, y no necesariamente negativa cuando la situación estresante ocurre de forma aguda (Sandi, y cols., 2001).

En los experimentos del presente estudio se pretendió evaluar si la ocurrencia de un único evento estresante antes de la exposición a un cambio sorpresivo en un ambiente conocido modificaba en algún sentido la respuesta de los sujetos ante dicho cambio. Como lo afirmaron Sandi y Pinelo-Nava (2007), la detección rápida de una situación amenazante puede hacer la diferencia entre la supervivencia o no de un individuo. Ahora bien, se ha descrito claramente que la restricción de movimientos resulta aversiva para los organismos. Sin embargo, para considerar que el cambio sorpresivo sea amenazante o negativo, éste debe: a) ser menos apetitivo o más aversivo respecto a la situación antes del cambio; y/o b) traer consecuencias negativas para el sujeto que lo experimenta. De esta manera, manipular experimentalmente un cambio sorpresivo negativo en el ambiente permitiría evaluar las estrategias conductuales y cambios fisiológicos que ocurren en una situación potencial de peligro, la cual es constante a lo largo de las especies. Esta manipulación controlada puede realizarse en por lo menos dos paradigmas: 1) el contraste sucesivo negativo consumatorio, y 2) la extinción del aprendizaje espacial, los dos evaluados en ratas. En el primer paradigma, el cambio es negativo porque la concentración de la solución consumida (usualmente sacarina o

sacarosa), que se conoce que es apetitiva para el animal, es reducida luego de 10 días de entrenamiento. En el día 11 esta reducción aparece sin previo aviso. En la extinción del aprendizaje espacial en el laberinto circular de Barnes, el cambio resulta negativo para las ratas porque la caja, que les permitía escapar del laberinto durante el entrenamiento, es retirada inesperadamente, lo que los obliga a permanecer en un espacio abierto, iluminado y ruidoso, estimulación altamente aversiva para esta especie (Whishaw, y Kolb, 2005). Así pues, los cambios comportamentales y fisiológicos que se evaluaron tras esta manipulación podrían considerarse efectos de la retirada sorpresiva de la recompensa.

De acuerdo con los resultados encontrados en los dos experimentos de este estudio, la devaluación de la recompensa provocó la supresión del consumo, y en la extinción, la retirada de la caja de escape provocó un aumento temporal en la exploración del laberinto y finalmente la reducción en la preferencia por la exploración del sector donde se encontraba el agujero que solía conducir a dicha caja. Esto es consistente con el claro fenómeno de contraste descrito en varios estudios no solo en contraste negativo consumatorio (véase la revisión de Flaherty, 1996; y más recientemente, Bentosela y cols., 2006; Pecoraro, y cols., 2009; Ruetti, y cols., 2009), sino también en contraste instrumental evaluado en el laberinto de corredor recto (Salinas, Williams, y McGaugh, 1996) y en la tarea de evitación activa de una vía (Torres, y cols. 2005), así como a lo descrito en los estudios de extinción de Thomas y Papini (2001), y Devenport (1984). En el primer estudio, los autores encontraron una vigorización temporal de la respuesta de lamida durante el primer ensayo de extinción de una tarea consumatoria, la cual se redujo casi completamente al final de la sesión de extinción (Thomas, y Papini, 2001). En el segundo, se encontró una dispersión temporal en la exploración como consecuencia de la retirada total de las porciones de alimento de los brazos previamente reforzados en la tarea del laberinto radial de ocho brazos, y una reducción en la preferencia por los brazos previamente reforzados, en los últimos ensayos de extinción (Devenport, 1984).

Ahora bien, suponer que la ocurrencia de este ajuste conductual es parte de un conjunto de reacciones emocionales negativas no es un supuesto claramente aceptado.

Aunque Amsel (1992) supuso la ocurrencia de un estado de frustración primaria por la devaluación sorpresiva, y Rescorla (2001) propuso la adquisición de una asociación inhibitoria facilitada por la ocurrencia de una frustración primaria, Flaherty afirmó que el cambio conductual puede deberse, en parte, a la búsqueda de la recompensa perdida, y Capaldi postuló la reducción en la respuesta por un decremento en la generalización de la respuesta por un cambio contextual, aunque algunos estudios han sugerido que el cambio contextual realizado en respuesta al aumento de la recompensa no reduce la respuesta, asumiendo un cambio en el tipo de asociación, sino que de hecho la incrementa (Flaherty, y cols., 1983; Flaherty, 1996, p. 80-81). Una posibilidad de esclarecer si los cambios comportamentales observados en los experimentos del presente estudio son parte de un conjunto de reacciones emocionales negativas, es evaluar si en estas tareas ocurren también los cambios fisiológicos que en estudios previos han sido asociados a reacciones emocionales negativas. Luego de la presentación de un estímulo típicamente aversivo, la activación fisiológica en roedores y primates está modulada por la actividad de los núcleos amigdaloides y el hipotálamo. Específicamente, el núcleo basolateral de la amígdala, que recibe información desde todas las modalidades sensoriales, se proyecta hacia el núcleo central de la amígdala (CeA). Tras dicha estimulación, el CeA produce la liberación de GABA en el núcleo del lecho de la stria terminalis, cuyas proyecciones GABAérgicas proyectan hacia el NPV. Dado que las proyecciones del CeA inhiben la inhibición que el núcleo del lecho de la stria terminalis ejerce sobre el NPV, el efecto final es la activación del eje HPA y su consecuente liberación de glucocorticoides (Herman, 2009; Kandel, Schwartz, y Jessell, 2000). De este modo, se esperaría que si la omisión es aversiva, la retirada de la recompensa produzca una activación del eje HPA, la cual puede ser evaluada a partir de la medición plasmática de corticosterona. Algunos estudios previos en tareas de contraste y extinción sugieren que es esto lo que ocurre. Por ejemplo, la extinción de una operante libre de presión de palanca en un programa de reforzamiento continuo para consumir agua, provocó una elevación significativa en los niveles plasmáticos de corticosterona evaluados inmediatamente (Coover, Goldman, y Levine, 1971b) o 2 minutos después de la primera sesión de extinción (Coover, y cols., 1971a). Asimismo, la reducción de sacarosa de 32% a 4% provocó un aumento en los niveles de corticosterona y de hormona adrenocorticotropa (ACTH) 10 minutos después del primer ensayo de devaluación (Pecoraro, y cols., 2009), aunque Mitchell y Flaherty (1998) encontraron una elevación en el segundo día, pero no luego del primer día de

devaluación. En el presente estudio, luego de la retirada de la caja de escape en la extinción del LCB la elevación de corticosterona plasmática fue semejante a aquella en animales sin tratamiento experimental, previamente descrita en otros estudios (Acosta, 2007; Sorg, y cols., 2001; Stamp, y cols., 2008). Adicionalmente, luego de la reducción de la concentración de sacarosa, los niveles de corticosterona no fueron significativamente mayores en relación con los animales sin devaluación.

Estos hallazgos podrían explicarse a partir de la propuesta de Flaherty (1996) que integra su propia hipótesis sobre la exploración por la búsqueda de la recompensa perdida, y la ocurrencia posterior de una respuesta de estrés por la exposición a una situación aversiva. Según esta propuesta, luego de la exposición a la omisión ocurre inicialmente una búsqueda de la recompensa perdida. Para el caso del contraste negativo consumatorio, el comportamiento se distribuiría entre el consumo de la nueva solución y algunas conductas de búsqueda como olisqueo, levantamiento sobre las patas traseras y desplazamiento dentro de la caja experimental, todas descritas previamente en este paradigma (Flaherty, 1996, p. 95), indicadores que no fueron evaluados en este estudio. Para el caso de la extinción en el LCB, esta búsqueda estaría reflejada en la exploración distribuida, observada en este experimento, entre la exploración al agujero que fue meta, y los otros agujeros. Esto sería consistente con la dispersión de exploración descrita por Devenport (1984) en la extinción de la tarea espacial del laberinto radial de ocho brazos, y con la vigorización temporal de la respuesta de consumo en la extinción de una tarea consumatoria, descrita por Thomas y Papini (2001). Asimismo, esta búsqueda tendría una validez ecológica según Waddington y Heinrich, (1981), considerando que el hallazgo de fuentes de reforzamiento puede formar una expectativa del promedio de recompensa accesible, y una vez esta accesibilidad está por debajo de las expectativas, los animales se alejarían de la ubicación particular donde se encontraba la recompensa pasada. Según Flaherty, luego de que el animal ha explorado y detectado que ya no se presenta la recompensa recibida previamente, la situación resulta aversiva: en el caso del contraste la fuente nutricional ha sido efectivamente reducida, y en el caso de la extinción de la tarea espacial, la fuente de escape ha sido completamente eliminada. De esta manera, debería observarse una activación fisiológica luego de transcurrido un tiempo de búsqueda. Flaherty sugiere que esto ocurre en el segundo ensayo de devaluación, y por ello la elevación en los niveles

de corticosterona es observada en este ensayo y no en el primero como lo describieron otros autores (Pecoraro, y cols., 2009). Para el caso de la extinción en el LCB, esta activación ocurriría luego del primer ensayo de extinción, y considerando que en este estudio la muestra fue tomada hasta 10 minutos después de terminar el octavo ensayo de extinción, la elevación encontrada no permite evaluar la dinámica del eje HPA durante los ensayos intermedios entre el inicio y el fin del entrenamiento de extinción. Para fortalecer la idea de que la exposición a la omisión de la recompensa provoque inicialmente una búsqueda activa y luego una respuesta de estrés ante la nueva situación aversiva, sería necesario evaluar, en nuevos estudios de contraste negativo consumatorio, no solamente el tiempo acumulado de consumo, sino también aquellas conductas que ocurren durante la sesión experimental que darían mejor cuenta de la actividad total de los sujetos ante la nueva situación, así como la concentración plasmática de corticosterona luego del segundo ensayo de devaluación. Asimismo, sería necesario evaluar en la extinción en el LCB, los cambios en los niveles de corticosterona plasmática en periodos de tiempo más cercanos a la primera exposición a la omisión, esto es, luego del primer y/o segundo ensayo de extinción, y así determinar de forma más precisa la dinámica del eje HPA asociada a la omisión total de recompensa.

Ahora bien, la propuesta de Flaherty explicaría parcialmente lo que ocurre durante los primeros momentos de exposición a la omisión de recompensa. No obstante, una posibilidad de comprender el ajuste conductual que ocurre en ensayos posteriores de omisión es considerar lo propuesto por Rescorla (2001), quien supone la adquisición de un aprendizaje de tipo inhibitorio como mecanismo explicativo para la reducción de la respuesta observada en la extinción, y lo propuesto por Amsel (1992, y elaboraciones siguientes, Ortega, y Papini, 2007) quien supone también el aprendizaje de una nueva contingencia como consecuencia de la devaluación. En las dos teorías, el estado emocional negativo provocado por la omisión facilitaría la adquisición de tal aprendizaje. Como ya se mencionó previamente, es posible que efectivamente la retirada parcial o total de la recompensa pudiera provocar dicho estado. Entonces, el aprendizaje adquirido sería de tipo asociativo, donde la respuesta no recompensada provocaría una activación emocional que fortalecería la asociación entre el nuevo contexto y la respuesta. Cada vez que se estuviera expuesto a este contexto, se evitaría la respuesta para evitar experimentar nuevamente el estado emocional negativo. Esto explicaría la

reducción en la preferencia por la exploración del agujero y sector meta en el LCB, pero no el aumento en el consumo en los siguientes ensayos de CSNc. No obstante, debe considerarse que si bien la devaluación resulta aversiva por tener un menor valor para los animales en comparación con la solución recibida previamente, los animales aún son reforzados por su respuesta. De esta manera, en principio el animal evitaría el contexto para evitar la activación emocional negativa, pero se aproxima nuevamente porque es a su vez reforzante, de tal forma que tras sucesivos ensayos, este conflicto se resuelve reduciendo la respuesta de evitación y aumentando la respuesta de aproximación (Ortega, y Papini, 2007). Una interpretación completamente diferente se basa en el estado metabólico del animal por el programa de privación al que se encuentra sometido. De hecho, si los animales mantenidos con alimentación *ad libitum* no muestran una recuperación de su tasa de consumo tras la devaluación como lo sugieren Riley y Dunlap (1979) en sus estudios de contraste con animales privados y *ad libitum*, esta supresión sostenida de la respuesta sí podría explicarse por un aprendizaje asociativo de tipo inhibitorio, y sería congruente con la disminución de la respuesta en tareas de extinción. Por lo anterior, para demostrar que la omisión total o parcial de recompensa es una nueva situación de aprendizaje de tipo inhibitorio, sería necesario un estudio adicional de CSNc que no incluya la posible alteración metabólica por el programa de privación.

El análisis de los efectos del estrés en las dos tareas de omisión de recompensa evaluadas en el presente estudio, específicamente el efecto observado en la tarea de extinción en la que los animales incrementan la exploración de agujeros diferentes al meta, puede ser interpretado como una optimización de la búsqueda de otros lugares de escape. Esta propuesta es consistente con un estudio en el que se encontró que la inducción de estrés agudo por restricción motora antes de la exposición novedosa a un campo abierto aumenta el tiempo de desplazamiento entre cuadrantes y reduce la latencia de inicio de exploración en una tarea de campo abierto (Harris., Zhou, Youngblood, Smagin, y Ryan, 1997); así como es comparable con otro estudio en el que se describió que los animales expuestos de forma repetida a estresores leves durante una semana incrementan el número de cruzamientos en las áreas centrales y periféricas de un campo abierto (Pardon, Pérez-Díaz, Joubert, y Cohen-Salmon, 2000), y con lo hallado por Katz y colaboradores en un estudio clásico donde la inducción de estrés

agudo aumentó la actividad locomotora de los animales en este mismo instrumento (Katz, Roth, y Carroll, 1981). Es posible que la facilitación observada en estos estudios esté relacionada con la acción de los glucocorticoides, así como se conocen sus efectos positivos, no solo sobre la adquisición de nueva información (Oitzl, y de Kloet, 1992; Sandi, y cols., 1997; Cordero, y cols., 1998) evaluada en periodos de prueba, sino también sobre la extinción de algunas tareas mencionadas en la introducción (Yang, y cols., 2006; de Quervain, y cols., 2009), considerando que en los tres casos (la exposición al campo abierto, la adquisición de nueva información y la extinción) las situaciones son novedosas. De este modo, es posible sugerir que el estrés facilita la exploración de nuevos lugares, lo cual optimiza el muestreo del ambiente y puede facilitar el aprendizaje de la nueva condición, a saber, que en el nuevo contexto la conducta de escape no será más reforzada. Para comprobar la efectividad de este muestreo, y por lo tanto la facilitación del aprendizaje de la nueva condición, se esperaría que luego de consolidada la nueva información en un periodo de retención, este grupo de animales explorara significativamente menos cualquiera de los agujeros del laberinto, es decir, que evidenciaran un aprendizaje más efectivo de la ausencia de reforzamiento, así como estudios previos han mostrado que el aprendizaje bajo estrés facilita su recobro (Cordero, y cols., 1998; Sandi, y cols., 1997). Por otro lado, es posible que el efecto observado del estrés sobre la extinción de la tarea espacial se deba a la naturaleza misma de la tarea, considerando que éste y los estudios mencionados han concluido sus hallazgos en tareas instrumentales, por lo cual podría sugerirse que los efectos del estrés agudo por restricción motora sean específicos, y su ausencia de efectos sobre la respuesta de lamida en el segundo experimento se deba a la naturaleza consumatoria de la tarea. Es importante señalar que, dado que los estudios de Bentosela, y cols., (2006) y Ruetti, y cols., (2009) sí han encontrado efectos sobre el fortalecimiento del contraste tras administración de corticosterona sistémica (luego del primer ensayo de devaluación), es posible que el tipo de estrés usado no haya inducido los incrementos suficientes en los niveles sistémicos de corticosterona como para producir los efectos descritos en la tarea de contraste negativo consumatorio. Para evaluar si el estrés por restricción motora tiene definitivamente o no un efecto sobre el fenómeno del contraste puede considerarse su estudio sobre tareas de contraste instrumental en el laberinto de corredor recto (Salinas, y cols., 1996) o en la tarea de evitación activa de una vía (Torres y cols., 2005).

Finalmente, aunque aún no se han esclarecido los mecanismos que explican la ocurrencia del contraste y la extinción, existe evidencia suficiente para suponer que su modulación involucra la activación del eje HPA y la acción de los glucocorticoides. Por ejemplo, Garrud y colaboradores en un trabajo temprano muestran la facilitación de la extinción en una tarea de corredor recto tras la administración de corticosterona dos horas antes de la extinción (Garrud, Gray, y de Weid, 1974). Más recientemente, algunos de los estudios revisados por de Quervain y colaboradores (2009) muestran que animales inyectados con metirapona o adrenalectomizados tardan más tiempo en adquirir la extinción en la tarea de condicionamiento de miedo contextual y evitación activa, así como los estudios de Bentosela y colaboradores (2006) y Ruetti y colaboradores (2009) que han descrito que la administración de corticosterona luego del primer ensayo de devaluación fortalece el contraste evaluado en ensayos posteriores. En primer lugar, dado que sí se observaron efectos comportamentales durante los primeros ensayos de extinción en los animales expuestos a estrés, es posible determinar su correlato fisiológico evaluando, en estudios posteriores, los niveles de concentración de corticosterona en periodos de tiempo más cercanos luego de la finalización de la restricción, de tal forma que pueda determinarse si la modulación sobre el eje HPA ocurre a la alta o a la baja, como se observó en el experimento de contraste consumatorio, teniendo en cuenta que la actividad del eje es temporalmente sensible y como se ha descrito previamente, la elevación de corticosterona en plasma sí se observa en periodos más cercanos entre la inducción de restricción motora y la toma de la muestra (Acosta, 2007). En segundo lugar, considerando que es posible observar el contraste negativo en animales sin privación alimenticia (Riley, y Dunlap, 1979), sería necesario evaluar si la modulación del eje HPA por restricción aguda de movimientos produce los mismos efectos en animales ad libitum, comparables a los cambios encontrados en el presente estudio, y así descartar la posibilidad de una desregulación del eje por privación crónica de alimentos o por alojamiento individual, o la reducción de su actividad por el aporte calórico suministrado por la sacarosa y requerido como complemento a la privación alimenticia (Dallman, y cols, 2006); o bien, sería necesario esclarecer si la exposición a la tarea consumatoria resulta emocionalmente activadora para determinar si la reducción en los niveles de corticosterona en plasma, observada en el presente estudio, pudiera ser la consecuencia de la liberación de glucocorticoides por

la tarea sumada a la liberación por la exposición a estrés agudo que facilite la retroalimentación negativa del eje HPA.

Es posible por tanto proponer que los efectos comportamentales y fisiológicos del estrés sobre las tareas de omisión de recompensa no pueden ser comprendidos a partir de una única aproximación, pues si bien en ambos tipos de tarea se produce un cambio sorpresivo negativo en comparación con las condiciones del aprendizaje inicial, al parecer la eliminación total de la recompensa que se presenta en la extinción de la tarea espacial es conductualmente más sensible a la experiencia previa de estrés que la devaluación. A este respecto, autores clásicos como Tinklepaugh (1928) consideran que, si bien los fenómenos de contraste y extinción ocurren tras una historia previa de aprendizaje y reforzamiento, cada uno de ellos relativiza para cada sujeto el valor de las recompensas y hace específica la reacción ante el cambio, con lo cual sería de esperar que la aparición de un estresor produzca efectos diferentes en el aprendizaje de ambos tipos de tarea.

A. Anexos:

Resultados Adquisición y recuperación experimento 1

One Way Repeated Measures Analysis of Variance

Data source: Latencia a meta

Normality Test: Failed (P < 0,050)
 Equal Variance Test: Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, RM ANOVA on Ranks begun

Friedman Repeated Measures Analysis of Variance on Ranks

Chi-square= 77,563 with 8 degrees of freedom. (P = <0,001)

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparison	Diff of Ranks	q	P<0,05
Adq1 vs Adq8	125,500	10,000	Yes
Adq1 vs Adq7	92,000	7,331	Yes
Adq1 vs Adq6	85,500	6,813	Yes
Adq1 vs PCC	82,500	6,574	Yes
Adq1 vs Adq4	71,500	5,697	Yes
Adq1 vs Adq5	64,500	5,139	Yes
Adq1 vs Adq3	40,500	3,227	No
Adq1 vs Adq2	18,500	1,474	Do Not Test
PCC vs Adq8	43,000	3,426	Do Not Test

One Way Repeated Measures Analysis of Variance

Data source: Frecuencia de exploraciones totales

Normality Test: Failed (P < 0,050)
 Equal Variance Test: Passed (P = 0,255)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Subjects	20	2732,519	136,626		
Between Treatments	8	1809,312	226,164	5,885	<0,001
Residual	160	6148,910	38,431		
Total	188	10690,741			

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):
 Overall significance level = 0,05

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Adq1 vs. Adq8	9,095	4,754	0,0000441	0,001	Yes
Adq1 vs. PCC	6,905	3,609	0,000410	0,002	Yes
Adq1 vs. Adq6	6,810	3,559	0,000490	0,002	Yes
Adq1 vs. Adq7	5,095	2,663	0,00853	0,002	No
Adq1 vs. Adq4	3,857	2,016	0,0455	0,003	No
Adq1 vs. Adq3	3,524	1,842	0,0673	0,003	No
Adq1 vs. Adq5	2,952	1,543	0,125	0,004	No
Adq1 vs. Adq2	1,048	0,548	0,585	0,010	No
PCC vs. Adq8	2,190	1,145	0,254	0,005	No

Efectos de la exposición a estrés agudo en la ejecución de tareas de omisión de recompensa y en los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas wistar

One Way Repeated Measures Analysis of Variance					
Data source: Distancia total recorrida					
Normality Test:	Failed	(P < 0,050)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,283)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Subjects	20	913121,593	45656,080		
Between Treatments	8	811230,684	101403,836	4,891	<0,001
Residual	160	3317304,864	20733,155		
Total	188	5041657,142			
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method): Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor:					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Adq1 vs. Adq8	210,059	4,727	0,00000496	0,001	Yes
Adq1 vs. Adq6	169,994	3,826	0,000187	0,002	Yes
Adq1 vs. PCC	168,176	3,785	0,000217	0,002	Yes
Adq1 vs. Adq7	139,893	3,148	0,00196	0,002	No
Adq1 vs. Adq3	106,005	2,386	0,0182	0,002	No
Adq1 vs. Adq4	99,788	2,246	0,0261	0,002	No
Adq1 vs. Adq5	89,420	2,012	0,0459	0,002	No
Adq1 vs. Adq2	19,908	0,448	0,655	0,010	No
PCC vs. Adq8	41,883	0,943	0,347	0,005	No

One Way Repeated Measures Analysis of Variance					
Data source: Frecuencia de errores de exploración					
Normality Test:	Failed	(P < 0,050)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,150)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Subjects	20	1825,661	91,283		
Between Treatments	8	1488,804	186,101	5,304	<0,001
Residual	160	5613,862	35,087		
Total	188	8928,328			
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method): Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor:					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Adq1 vs. Adq8	8,762	4,793	0,00000373	0,001	Yes
Adq1 vs. Adq6	6,619	3,621	0,000394	0,002	Yes
Adq1 vs. PCC	6,571	3,595	0,000432	0,002	Yes
Adq1 vs. Adq7	5,143	2,813	0,00552	0,002	No
Adq1 vs. Adq4	4,238	2,318	0,0217	0,002	No
Adq1 vs. Adq3	3,952	2,162	0,0321	0,002	No
Adq1 vs. Adq5	3,571	1,954	0,0525	0,003	No
Adq1 vs. Adq2	0,238	0,130	0,897	0,025	No

One Way Repeated Measures Analysis of Variance

Data source: Errores Ponderados

Normality Test: Failed (P < 0,050)
Equal Variance Test: Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, RM ANOVA on Ranks begun

Friedman Repeated Measures Analysis of Variance on Ranks

Chi-square= 29,383 with 8 degrees of freedom. (P = <0,001)

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparison	Diff of Ranks	q	P<0,05
Adq1 vs Adq8	83,500	6,653	Yes
Adq1 vs Adq6	54,000	4,303	No
Adq1 vs PCC	46,500	3,705	Do Not Test
Adq1 vs Adq7	41,500	3,307	Do Not Test
Adq1 vs Adq4	40,000	3,187	Do Not Test
Adq1 vs Adq5	37,000	2,948	Do Not Test
Adq1 vs Adq3	26,000	2,072	Do Not Test
Adq1 vs Adq2	13,500	1,076	Do Not Test

Paired t-test:

Data source: Errores Ponderados

Normality Test: Failed (P < 0,050)

Test execution ended by user request, Signed Rank Test begun

Wilcoxon Signed Rank Test

Data source: Data 4 in Adquisicion_Tesis

Group	N	Missing	Median	25%	75%
Adq1	21	0	636,913	313,156	1193,802
PCC	21	0	239,489	96,577	398,205

W= -175,000 T+ = 28,000 T-= -203,000

Z-Statistic (based on positive ranks) = -3,041

(P = 0,002)

Anexo 1B

Resultados Extinción experimento 1

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)					
Dependent Variable: Latencia Primaria de llegada a meta					
Normality Test:	Passed	(P = 0,183)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,140)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	427,696	427,696	0,0296	0,865
Sujeto(Tratamiento)	19	274581,324	14451,649		
Ensayo	7	267033,661	38147,666	5,930	<0,001
Tratamiento x Ensayo	7	60750,162	8678,595	1,349	0,232
Residual	133	855559,180	6432,776		
Total	167	1452227,956	8695,976		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method): Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: Tratamiento					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	3,195	0,172	0,865	0,050	No
Comparisons for factor: Ensayo within Control					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X8 vs. X1	110,508	3,231	0,002	0,002	Yes
Comparisons for factor: Ensayo within Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X8 vs. X1	163,157	4,549	0,000	0,002	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within X1					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	13,231	0,351	0,726	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X2					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	28,513	0,757	0,450	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X3					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	44,223	1,174	0,243	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	41,477	1,101	0,273	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X5					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	10,542	0,280	0,780	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X6					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	31,784	0,844	0,400	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X7					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	39,418	1,046	0,297	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X8					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	65,880	1,749	0,083	0,050	No

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)

Dependent Variable: Frecuencia de exploración a meta

Normality Test: Failed (P < 0,050)
Equal Variance Test: Passed (P = 0,960)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	0,0195	0,0195	0,00172	0,967
Sujeto(Tratamiento)	19	215,885	11,362		
Ensayo	7	178,043	25,435	8,497	<0,001
Tratamiento x Ensayo	7	16,448	2,350	0,785	0,601
Residual	133	398,124	2,993		
Total	167	807,405	4,835		

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):
 Overall significance level = 0,05

Comparisons for factor: **Tratamiento**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	0,0216	0,0415	0,967	0,050	No

Comparisons for factor: **Ensayo within Control**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X1 vs. X8	2,909	3,943	0,000	0,002	Yes

Comparisons for factor: **Ensayo within Estres**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X1 vs. X8	3,800	4,911	0,000	0,002	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within X1**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	0,236	0,269	0,788	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X2**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	0,282	0,321	0,749	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X3**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	1,300	1,480	0,142	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X4**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	0,836	0,952	0,343	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X5**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	0,136	0,155	0,877	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X6**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	0,255	0,290	0,773	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X7**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	0,327	0,373	0,710	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X8**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	0,655	0,745	0,458	0,050	No

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)

Dependent Variable: LatINICIO

Normality Test: Failed (P < 0,050)
Equal Variance Test: Passed (P = 0,164)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	60,108	60,108	0,695	0,415
Sujeto(Tratamiento)	19	1643,037	86,476		
Ensayo	7	523,521	74,789	1,561	0,152
Tratamiento x Ensayo	7	274,395	39,199	0,818	0,574
Residual	133	6371,556	47,906		
Total	167	8899,596	53,291		

Efectos de la exposición a estrés agudo en la ejecución de tareas de omisión de recompensa y en los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas wistar

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)					
Dependent Variable: DistRecorrida					
Normality Test:	Failed	(P < 0,050)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,408)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	454893,261	454893,261	1,612	0,220
Sujeto(Tratamiento)	19	5362574,158	282240,745		
Ensayo	7	12270485,405	1752926,486	55,617	<0,001
Tratamiento x Ensayo	7	1244092,834	177727,548	5,639	<0,001
Residual	133	4191903,963	31518,075		
Total	167	23218939,678	139035,567		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):					
Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: Tratamiento					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	104,189	1,270	0,220	0,050	No
Comparisons for factor: Ensayo within Control					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X1 vs. X8	616,785	8,148	0,000	0,002	Yes
Comparisons for factor: Ensayo within Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X1 vs. X8	1095,760	13,801	0,000	0,002	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within X1					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	416,102	3,798	0,000	0,050	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within X2					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	201,310	1,838	0,071	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X3					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	251,550	2,296	0,025	0,050	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within X4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	129,822	1,185	0,241	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X5					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	158,150	1,444	0,154	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X6					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	32,084	0,293	0,771	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X7					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	23,669	0,216	0,830	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X8					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	62,873	0,574	0,568	0,050	No

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)

Dependent Variable: Frecuencia de exploraciones totales

Normality Test: Failed (P < 0,050)
Equal Variance Test: Passed (P = 0,064)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	933,301	933,301	2,314	0,145
Sujeto(Tratamiento)	19	7661,603	403,242		
Ensayo	7	12972,931	1853,276	44,349	<0,001
Tratamiento x Ensayo	7	2021,026	288,718	6,909	<0,001
Residual	133	5557,878	41,789		
Total	167	28715,280	171,948		

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):
 Overall significance level = 0,05

Comparisons for factor: **Tratamiento**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	4,719	1,521	0,145	0,050	No

Comparisons for factor: **Ensayo within Control**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X1 vs. X8	18,273	6,629	0,000	0,002	Yes

Comparisons for factor: **Ensayo within Estres**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X1 vs. X8	39,000	13,490	0,000	0,002	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within X1**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	20,336	4,991	0,000	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within X2**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	8,900	2,184	0,033	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within X3**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	6,227	1,528	0,132	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X4**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	1,455	0,357	0,723	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X5**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	3,836	0,942	0,351	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X6**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	1,382	0,339	0,736	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X7**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	3,682	0,904	0,370	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X8**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	0,391	0,0959	0,924	0,050	No

Efectos de la exposición a estrés agudo en la ejecución de tareas de omisión de recompensa y en los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas wistar

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)					
Dependent Variable: Frecuencia de exploraciones diferentes a meta					
Normality Test:	Failed	(P < 0,050)			
Equal Variance Test:	Failed	(P < 0,050)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	941,861	941,861	2,785	0,112
Sujeto(Tratamiento)	19	6425,473	338,183		
Ensayo	7	10160,099	1451,443	40,542	<0,001
Tratamiento x Ensayo	7	1944,527	277,790	7,759	<0,001
Residual	133	4761,473	35,801		
Total	167	23858,708	142,867		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):					
Comparisons for factor: Tratamiento					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
Estres vs. Control	4,741	2	2,360	0,112	No
Comparisons for factor: Ensayo within Control					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
X1 vs. X8	15,364	8	8,516	<0,001	Yes
Comparisons for factor: Ensayo within Estres					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
X1 vs. X8	35,200	8	18,604	<0,001	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within X1					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	20,100	2	7,583	<0,001	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within X2					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	9,182	2	3,464	0,018	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within X3					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	4,927	2	1,859	0,194	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X4					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	2,291	2	0,864	0,544	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X5					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Control vs. Estres	3,973	2	1,499	0,294	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X6					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	1,127	2	0,425	0,765	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X7					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	4,009	2	1,513	0,290	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X8					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	0,264	2	0,0995	0,944	No

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)

Dependent Variable: Exploraciones ponderadas a agujeros diferentes a meta

Normality Test: Failed (P < 0,050)
Equal Variance Test: Failed (P < 0,050)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	4284481,607	4284481,607	4,754	0,042
Sujeto(Tratamiento)	19	17124901,987	901310,631		
Ensayo	7	33574305,286	4796329,327	28,974	<0,001
Tratamiento x Ensayo	7	8300711,531	1185815,933	7,163	<0,001
Residual	133	22017020,453	165541,507		
Total	167	83860302,608	502157,501		

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Tratamiento**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
Estres vs. Control	319,755	2	3,083	0,042	Yes

Comparisons for factor: **Ensayo within Control**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
X1 vs. X8	693,161	8	5,650	0,002	Yes

Comparisons for factor: **Ensayo within Estres**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
X1 vs. X8	2121,334	8	16,488	<0,001	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within X1**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	1394,663	2	8,896	<0,001	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within X2**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	366,140	2	2,335	0,103	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X3**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	420,716	2	2,683	0,061	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X4**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	193,734	2	1,236	0,385	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X5**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Control vs. Estres	137,888	2	0,879	0,536	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X6**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	62,877	2	0,401	0,778	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X7**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	291,310	2	1,858	0,193	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X8**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Control vs. Estres	33,510	2	0,214	0,880	No

Anexo 1C

Resultados de Análisis por sector experimento 1

Two Way Repeated Measures ANOVA (Two Factor Repetition)					
Data source: Análisis por sector_Control					
Dependent Variable: Frecuencia de exploración					
Normality Test:	Failed	(P < 0,050)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,189)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Sujeto	10	841,146	84,115		
Sector	1	777,841	777,841	18,036	0,002
Sector x Sujeto	10	431,269	43,127		
Ensayo	7	361,102	51,586	13,619	<0,001
Ensayo x Sujeto	70	265,148	3,788		
Sector x Ensayo7	112,134	16,019	2,532	0,022	
Residual	70	442,916	6,327		
Total	175	3231,556	18,466		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method): Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: Sector					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2		4,205	4,247	0,00170	0,050 Yes
Comparisons for factor: Ensayo within Sector 1					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X1 vs. X8	7,818	8,153	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X7	6,818	7,110	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X6	6,273	6,541	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X4	4,545	4,740	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X5	4,455	4,645	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X3	4,364	4,550	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X2	4,182	4,361	0,000	0,002	Yes
Comparisons for factor: Ensayo within Sector 2					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X1 vs. X7	2,345	2,446	0,016	0,002	No
X1 vs. X8	2,091	2,180	0,031	0,002	No
X1 vs. X6	2,055	2,143	0,034	0,002	No
X1 vs. X5	2,055	2,143	0,034	0,002	No
X1 vs. X3	1,709	1,782	0,077	0,002	No
X1 vs. X4	1,655	1,725	0,087	0,002	No
X1 vs. X2	1,273	1,327	0,187	0,002	No
Comparisons for factor: Sector within X1					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	7,364	5,224	0,000	0,050	Yes
Comparisons for factor: Sector within X2					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	4,455	3,160	0,003	0,050	Yes
Comparisons for factor: Sector within X3					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	4,709	3,341	0,002	0,050	Yes
Comparisons for factor: Sector within X4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	4,473	3,173	0,003	0,050	Yes
Comparisons for factor: Sector within X5					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	4,964	3,521	0,001	0,050	Yes
Comparisons for factor: Sector within X6					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	3,145	2,232	0,032	0,050	Yes
Comparisons for factor: Sector within X7					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	2,891	2,051	0,048	0,050	Yes
Comparisons for factor: Sector within X8					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	1,636	1,161	0,253	0,050	No

Two Way Repeated Measures ANOVA (Two Factor Repetition)

Data source: Análisis por sector_Estrés

Dependent Variable: Frecuencia de exploración

Normality Test: Failed (P < 0,050)
Equal Variance Test: Passed (P = 0,507)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Sujeto	9	301,256	33,473		
Sector	1	486,506	486,506	11,688	0,008
Sector x Sujeto	9	374,606	41,623		
Ensayo	7	860,652	122,950	14,353	<0,001
Ensayo x Sujeto	63	539,666	8,566		
Sector x Ensayo7	98,272	14,039	2,326	0,035	
Residual	63	380,196	6,035		
Total	159	3041,154	19,127		

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):
Overall significance level = 0,05

Comparisons for factor: **Sector**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	3,488	3,419	0,00764	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Ensayo within Sector 1**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X1 vs. X8	9,100	7,531	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X7	7,600	6,290	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X5	7,100	5,876	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X6	6,700	5,545	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X3	5,600	4,634	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X4	5,200	4,303	0,000	0,003	Yes
X1 vs. X2	1,600	1,324	0,188	0,006	No

Comparisons for factor: **Ensayo within Sector 2**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X1 vs. X5	6,360	5,263	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X8	5,980	4,949	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X6	5,760	4,767	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X7	5,520	4,568	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X4	5,300	4,386	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X3	4,320	3,575	0,001	0,002	Yes
X1 vs. X2	4,120	3,410	0,001	0,002	Yes

Comparisons for factor: **Sector within X1**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	4,180	2,887	0,007	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Sector within X2**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	6,700	4,627	0,000	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Sector within X3**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	2,900	2,003	0,054	0,050	No

Comparisons for factor: **Sector within X4**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	4,280	2,956	0,006	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Sector within X5**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	3,440	2,376	0,024	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Sector within X6**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	3,240	2,238	0,032	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Sector within X7**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	2,100	1,450	0,157	0,050	No

Comparisons for factor: **Sector within X8**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Sector 1 vs. Sector 2	1,060	0,732	0,469	0,050	No

Efectos de la exposición a estrés agudo en la ejecución de tareas de omisión de recompensa y en los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas wistar

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)					
Dependent Variable: Sector 1					
Normality Test:	Failed	(P < 0,050)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,264)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	1,368	1,368	0,0146	0,905
Sujeto(Tratamiento)	19	1780,453	93,708		
Ensayo	7	1028,055	146,865	13,431	<0,001
Tratamiento x Ensayo	7	81,651	11,664	1,067	0,388
Residual	133	1454,338	10,935		
Total	167	4334,571	25,956		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method): Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: Tratamiento					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	0,181	0,121	0,905	0,050	No
Comparisons for factor: Ensayo within Control					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X1 vs. X8	7,818	5,545	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X7	6,818	4,836	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X6	6,273	4,449	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X4	4,545	3,224	0,002	0,002	Yes
X1 vs. X5	4,455	3,159	0,002	0,002	Yes
X1 vs. X3	4,364	3,095	0,002	0,002	No
X1 vs. X2	4,182	2,966	0,004	0,002	No
Comparisons for factor: Ensayo within Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
X1 vs. X8	9,100	6,153	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X7	7,600	5,139	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X5	7,100	4,801	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X6	6,700	4,531	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X3	5,600	3,787	0,000	0,002	Yes
X1 vs. X4	5,200	3,516	0,001	0,003	Yes
X1 vs. X2	1,600	1,082	0,281	0,006	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X1					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	0,736	0,365	0,716	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X2					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	3,318	1,646	0,105	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X3					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	0,500	0,248	0,805	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	0,0818	0,0406	0,968	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X5					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	1,909	0,947	0,348	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X6					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	0,309	0,153	0,879	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X7					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	0,0455	0,0226	0,982	0,050	No
Comparisons for factor: Tratamiento within X8					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	0,545	0,271	0,788	0,050	No

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)

Dependent Variable: Sector 2

Normality Test: Failed (P < 0,050)
Equal Variance Test: Failed (P < 0,050)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	33,772	33,772	3,823	0,065
Sujeto(Tratamiento)	19	167,825	8,833		
Ensayo	7	279,528	39,933	30,595	<0,001
Tratamiento x Ensayo	7	66,053	9,436	7,230	<0,001
Residual	133	173,589	1,305		
Total	167	708,931	4,245		

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Tratamiento**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
Estres vs. Control	0,898	2	2,765	0,066	No

Comparisons for factor: **Ensayo within Control**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
X1 vs. X7	2,345	8	6,809	<0,001	Yes
X1 vs. X8	2,091	8	6,070	<0,001	Yes
X1 vs. X5	2,055	8	5,965	<0,001	Yes
X1 vs. X6	2,055	8	5,965	<0,001	Yes
X1 vs. X3	1,709	8	4,962	0,011	Yes
X1 vs. X4	1,655	8	4,803	0,016	Yes
X1 vs. X2	1,273	8	3,695	0,151	No

Comparisons for factor: **Ensayo within Estres**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
X1 vs. X5	6,360	8	17,604	<0,001	Yes
X1 vs. X8	5,980	8	16,553	<0,001	Yes
X1 vs. X6	5,760	8	15,944	<0,001	Yes
X1 vs. X7	5,520	8	15,279	<0,001	Yes
X1 vs. X4	5,300	8	14,670	<0,001	Yes
X1 vs. X3	4,320	8	11,958	<0,001	Yes
X1 vs. X2	4,120	8	11,404	<0,001	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within X1**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	3,920	2	8,466	<0,001	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within X2**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	1,073	2	2,317	0,106	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X3**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	1,309	2	2,827	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within X4**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	0,275	2	0,593	0,676	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X5**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Control vs. Estres	0,385	2	0,832	0,558	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X6**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	0,215	2	0,463	0,744	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X7**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	0,745	2	1,610	0,259	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within X8**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Estres vs. Control	0,0309	2	0,0668	0,963	No

Anexo 1D

Resultados de Análisis por minuto experimento 1

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)					
Data source: Análisis por minuto					
Dependent Variable: Frecuencia de exploraciones totales					
Normality Test:	Passed	(P = 0,054)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,325)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	551,304	551,304	17,816	<0,001
Sujeto(Tratamiento)	19	587,934	30,944		
Intervalo	3	734,235	244,745	21,785	<0,001
Tratamiento x Intervalo	3	63,902	21,301	1,896	0,141
Residual	57	640,384	11,235		
Total	83	2575,238	31,027		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):					
Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: Tratamiento					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	5,130	4,221	0,000463	0,050	Yes
Comparisons for factor: Intervalo within Control					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Minuto 1 vs. Minuto 3	6,909	4,834	0,000	0,009	Yes
Minuto 1 vs. Minuto 4	6,909	4,834	0,000	0,010	Yes
Minuto 1 vs. Minuto 2	3,000	2,099	0,040	0,025	No
Comparisons for factor: Intervalo within Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Minuto 1 vs. Minuto 4	9,200	6,137	0,000	0,009	Yes
Minuto 1 vs. Minuto 3	4,500	3,002	0,004	0,017	Yes
Minuto 1 vs. Minuto 2	4,200	2,802	0,007	0,025	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within Minuto 1					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	5,400	3,074	0,003	0,050	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within Minuto 2					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	4,200	2,391	0,020	0,050	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within Minuto 3					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	7,809	4,446	0,000	0,050	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within Minuto 4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	3,109	1,770	0,082	0,050	No

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)

Data source: **Análisis por minuto**

Dependent Variable: Frecuencia de exploración a meta

Normality Test: Failed (P < 0,050)
 Equal Variance Test: Passed (P = 0,096)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	0,0732	0,0732	0,0574	0,813
Sujeto(Tratamiento)	19	24,236	1,276		
Intervalo	3	10,979	3,660	3,606	0,019
Tratamiento x Intervalo	3	1,836	0,612	0,603	0,616
Residual	57	57,855	1,015		
Total	83	94,810	1,142		

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):
 Overall significance level = 0,05

Comparisons for factor: **Tratamiento**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	0,0591	0,239	0,813	0,050	No

Comparisons for factor: **Intervalo within Control**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Minuto 1 vs. Minuto 4	0,727	1,693	0,096	0,009	No
Minuto 1 vs. Minuto 3	0,636	1,481	0,144	0,013	No
Minuto 1 vs. Minuto 2	0,0909	0,212	0,833	0,025	No

Comparisons for factor: **Intervalo within Estres**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Minuto 1 vs. Minuto 4	1,200	2,663	0,010	0,009	No
Minuto 1 vs. Minuto 2	0,300	0,666	0,508	0,017	No
Minuto 1 vs. Minuto 3	0,300	0,666	0,508	0,025	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within Minuto 1**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	0,145	0,320	0,750	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within Minuto 2**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	0,0636	0,140	0,889	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within Minuto 3**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	0,482	1,061	0,292	0,050	No

Comparisons for factor: **Tratamiento within Minuto 4**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Control vs. Estres	0,327	0,721	0,473	0,050	No

Paired t-test

Data source: Frecuencia de exploración a meta

Normality Test: Passed (P = 0,452)

Treatment Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Min1Control	11	0	1,455	0,934	0,282
Min4Control	11	0	0,727	0,786	0,237
Difference	11	0	0,727	1,272	0,384

t = 1,896 with 10 degrees of freedom. (P = 0,087)

Paired t-test:

Data source: Frecuencia de exploración a meta

Normality Test: Failed (P < 0,050)

Wilcoxon Signed Rank Test

Group	N	Missing	Median	25%	75%	
Minuto 1ESTRES	10	0	0	2,000	1,000	2,000
Minuto 4ESTRES	10	0	0	0,000	0,000	1,000

W= -36,000 T+ = 0,000 T- = -36,000
 Z-Statistic (based on positive ranks) = -2,588
 P(est.)= 0,012 P(exact)= 0,008

Efectos de la exposición a estrés agudo en la ejecución de tareas de omisión de recompensa y en los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas wistar

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)					
Data source: Análisis por minuto					
Dependent Variable: Frecuencia de exploraciones diferentes a meta					
Normality Test:	Passed	(P = 0,077)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,353)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	538,675	538,675	19,252	<0,001
Sujeto(Tratamiento)	19	531,634	27,981		
Intervalo	3	574,491	191,497	21,535	<0,001
Tratamiento x Intervalo	3	44,253	14,751	1,659	0,186
Residual	57	506,866	8,892		
Total	83	2194,810	26,443		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):					
Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: Tratamiento					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	5,070	4,388	0,000316	0,050	Yes
Comparisons for factor: Intervalo within Control					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Minuto 1 vs. Minuto 3	6,273	4,933	0,000	0,009	Yes
Minuto 1 vs. Minuto 4	6,182	4,862	0,000	0,010	Yes
Minuto 1 vs. Minuto 2	2,909	2,288	0,026	0,025	No
Comparisons for factor: Intervalo within Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Minuto 1 vs. Minuto 4	8,000	5,999	0,000	0,009	Yes
Minuto 2 vs. Minuto 4	4,100	3,074	0,003	0,013	Yes
Minuto 1 vs. Minuto 2	3,900	2,924	0,005	0,017	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within Minuto 1					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	5,255	3,253	0,002	0,050	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within Minuto 2					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	4,264	2,640	0,011	0,050	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within Minuto 3					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	7,327	4,537	0,000	0,050	Yes
Comparisons for factor: Tratamiento within Minuto 4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	3,436	2,128	0,038	0,050	Yes

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)

Data source: Análisis por minuto
 Dependent Variable: Ponderados

Normality Test: Passed (P = 0,086)
 Equal Variance Test: Passed (P = 0,304)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Tratamiento	1	2581805,554	2581805,554	21,906	<0,001
Sujeto(Tratamiento)	19	2239277,992	117856,736		
Intervalo	3	2073482,730	691160,910	16,976	<0,001
Tratamiento x Intervalo	3	107647,405	35882,468	0,881	0,456
Residual	57	2320728,159	40714,529		
Total	83	9314454,229	112222,340		

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):
 Overall significance level = 0,05

Comparisons for factor: **Tratamiento**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	351,031	4,680	0,000163	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Intervalo within Control**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Minuto 1 vs. Minuto 3	368,108	4,278	0,000	0,009	Yes
Minuto 1 vs. Minuto 4	332,886	3,869	0,000	0,010	Yes
Minuto 1 vs. Minuto 2	129,514	1,505	0,138	0,025	No

Comparisons for factor: **Intervalo within Estres**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Minuto 1 vs. Minuto 4	469,830	5,207	0,000	0,009	Yes
Minuto 1 vs. Minuto 3	333,579	3,697	0,000	0,010	Yes
Minuto 1 vs. Minuto 2	237,599	2,633	0,011	0,013	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within Minuto 1**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	403,656	3,772	0,000	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within Minuto 2**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	295,571	2,762	0,008	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within Minuto 3**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	438,185	4,094	0,000	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Tratamiento within Minuto 4**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. Control	266,711	2,492	0,016	0,050	Yes

Anexo 1E

Resultados de concentración de corticosterona experimento 1

t-test					
Data source: Corticosterona extinción					
Normality Test:	Passed	(P = 0,175)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,723)			
Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Control	6	0	49,113	26,574	10,849
Estrés	6	0	54,539	19,332	7,892
Difference	-5,426				
t = -0,404 with 10 degrees of freedom. (P = 0,694)					
95 percent confidence interval for difference of means: -35,319 to 24,467					

Anexo 2

A	X1-Control		
	Variable	Coefficiente de correlación r	p
	Latencia primaria de llegada al agujero meta	0,134	0,800
	Frecuencia de exploraciones al agujero meta	-0,162	0,760
	Frecuencia de exploraciones diferentes al agujero meta	-0,248	0,636
	Distancia Total Recorrida	-0,406	0,425
	Frecuencia de exploraciones totales	-0,294	0,572
	Exploraciones ponderadas diferentes a meta	-0,211	0,688

B	X8-Control		
	Variable	Coefficiente de correlación r	p
	Latencia primaria de llegada al agujero meta	0,522	0,288
	Frecuencia de exploraciones al agujero meta	-0,566	0,241
	Frecuencia de exploraciones diferentes al agujero meta	-0,389	0,447
	Distancia Total Recorrida	-0,395	0,438
	Frecuencia de exploraciones totales	-0,429	0,396
	Exploraciones ponderadas diferentes a meta	-0,418	0,409

C	X1-Estrés		
	Variable	Coefficiente de correlación r	p
	Latencia primaria de llegada al agujero meta	-0,577	0,251
	Frecuencia de exploraciones al agujero meta	0,685	0,133
	Frecuencia de exploraciones diferentes al agujero meta	0,134	0,800
	Distancia Total Recorrida	0,554	0,254
	Frecuencia de exploraciones totales	0,238	0,650
	Exploraciones ponderadas diferentes a meta	0,165	0,754

D	X8-Estrés		
	Variable	Coefficiente de correlación r	p
	Latencia primaria de llegada al agujero meta	0,472	0,385
	Frecuencia de exploraciones al agujero meta	-0,611	0,197
	Frecuencia de exploraciones diferentes al agujero meta	0,264	0,613
	Distancia Total Recorrida	0,0341	0,949
	Frecuencia de exploraciones totales	0,088	0,867
	Exploraciones ponderadas diferentes a meta	0,284	0,585

Coeficientes de correlación r y valor p entre nivel de concentración de corticosterona plasmática y latencia primaria de llegada a meta, frecuencia de exploración total, al agujero meta y a agujeros diferentes a meta, y exploraciones ponderadas en: (A) X1-control; (B) X8-control; (C) X1-estrés; (D) X8-estrés

Anexo 3A

Resultados del entrenamiento experimento 2, procedimiento A

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)					
Normality Test:	Failed	(P < 0,050)			
Equal Variance Test:	Failed	(P < 0,050)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Grupo	3	31071,554	10357,185	0,929	0,436
Sujeto(Grupo)	36	401156,566	11143,238		
Ensayo	9	754034,175	83781,575	59,017	<0,001
Grupo x Ensayo	27	93659,064	3468,854	2,444	<0,001
Residual	324	459957,402	1419,622		
Total	399	1739878,760	4360,598		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):					
Comparisons for factor: Grupo					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	23,788	4	2,253	0,395	No
32-No-Estres vs. 32-Estres	17,482	4	1,656	0,649	Do Not Test
32-No-Estres vs. 4-Estres	16,803	4	1,592	0,677	Do Not Test
4-Estres vs. 4-No-Estres	6,986	4	0,662	0,966	Do Not Test
4-Estres vs. 32-Estres	0,680	4	0,0644	1,000	Do Not Test
32-Estres vs. 4-No-Estres	6,306	4	0,597	0,974	Do Not Test
Comparisons for factor: Ensayo within 4-No-Estres					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Dia 10 vs. Dia 1	190,101	10	15,955	<0,001	Yes
Comparisons for factor: Ensayo within 4-Estres					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Dia 10 vs. Dia 1	187,250	10	15,716	<0,001	Yes
Comparisons for factor: Ensayo within 32-No-Estres					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Dia 10 vs. Dia 1	121,006	10	10,156	<0,001	Yes
Comparisons for factor: Ensayo within 32-Estres					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Dia 10 vs. Dia 1	87,255	10	7,323	<0,001	Yes

Comparisons for factor: Grupo within Dia 1						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
32-Estres vs. 4-No-Estres	80,879	4	5,229	0,001	Yes	
32-Estres vs. 4-Estres	73,944	4	4,781	0,004	Yes	
32-Estres vs. 32-No-Estres	1,578	4	0,102	1,000	No	
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	79,301	4	5,127	0,002	Yes	
32-No-Estres vs. 4-Estres	72,366	4	4,679	0,005	Yes	
4-Estres vs. 4-No-Estres	6,935	4	0,448	0,989	No	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 2						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
32-No-Estres vs. 4-Estres	44,613	4	2,885	0,173	No	
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	39,057	4	2,525	0,280	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 32-Estres	1,159	4	0,0749	1,000	Do Not Test	
32-Estres vs. 4-Estres	43,454	4	2,810	0,193	Do Not Test	
32-Estres vs. 4-No-Estres	37,898	4	2,450	0,307	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 4-Estres	5,556	4	0,359	0,994	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 3						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	45,365	4	2,933	0,162	No	
32-No-Estres vs. 4-Estres	9,968	4	0,645	0,969	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 32-Estres	2,432	4	0,157	1,000	Do Not Test	
32-Estres vs. 4-No-Estres	42,933	4	2,776	0,202	Do Not Test	
32-Estres vs. 4-Estres	7,536	4	0,487	0,986	Do Not Test	
4-Estres vs. 4-No-Estres	35,397	4	2,289	0,368	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 4						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
4-Estres vs. 32-Estres	15,927	4	1,030	0,886	No	
4-Estres vs. 4-No-Estres	15,776	4	1,020	0,889	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-No-Estres	8,437	4	0,546	0,981	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 32-Estres	7,490	4	0,484	0,986	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	7,339	4	0,475	0,987	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-Estres	0,151	4	0,00976	1,000	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 5						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
32-No-Estres vs. 32-Estres	53,884	4	3,484	0,066	No	
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	34,996	4	2,263	0,379	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 4-Estres	18,582	4	1,201	0,831	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-Estres	35,302	4	2,283	0,371	Do Not Test	
4-Estres vs. 4-No-Estres	16,414	4	1,061	0,877	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-Estres	18,888	4	1,221	0,824	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 6						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
4-No-Estres vs. 32-Estres	16,580	4	1,072	0,873	No	
4-No-Estres vs. 32-No-Estres	1,374	4	0,0888	1,000	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 4-Estres	1,019	4	0,0659	1,000	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-Estres	15,561	4	1,006	0,893	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-No-Estres	0,355	4	0,0230	1,000	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 32-Estres	15,206	4	0,983	0,899	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 7						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
4-No-Estres vs. 32-Estres	16,508	4	1,067	0,875	No	
4-No-Estres vs. 4-Estres	12,938	4	0,837	0,935	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-No-Estres	3,806	4	0,246	0,998	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 32-Estres	12,702	4	0,821	0,938	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 4-Estres	9,132	4	0,590	0,976	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-Estres	3,570	4	0,231	0,998	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 8						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
32-No-Estres vs. 32-Estres	35,875	4	2,320	0,356	No	
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	21,403	4	1,384	0,762	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 4-Estres	12,244	4	0,792	0,944	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-Estres	23,631	4	1,528	0,702	Do Not Test	
4-Estres vs. 4-No-Estres	9,159	4	0,592	0,975	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-Estres	14,472	4	0,936	0,911	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 9						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
32-No-Estres vs. 32-Estres	15,481	4	1,001	0,894	No	
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	5,395	4	0,349	0,995	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 4-Estres	3,790	4	0,245	0,998	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-Estres	11,691	4	0,756	0,951	Do Not Test	
4-Estres vs. 4-No-Estres	1,605	4	0,104	1,000	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-Estres	10,086	4	0,652	0,967	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 10						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
32-No-Estres vs. 32-Estres	32,173	4	2,080	0,455	No	
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	10,206	4	0,660	0,966	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 4-Estres	6,122	4	0,396	0,992	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-Estres	26,051	4	1,684	0,633	Do Not Test	
4-Estres vs. 4-No-Estres	4,084	4	0,264	0,998	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-Estres	21,967	4	1,420	0,747	Do Not Test	

Anexo 3B

Resultados Día 11 experimento 2, procedimiento A

Two Way Analysis of Variance					
Normality Test:	Passed	(P = 0,579)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,626)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ESTRES	1	837,317	837,317	0,534	0,470
Contraste	1	225460,736	225460,736	143,780	<0,001
ESTRES x Contraste	1	938,477	938,477	0,598	0,444
Residual	36	56451,253	1568,090		
Total	39	283687,782	7274,046		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method): Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: ESTRES					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	9,150	0,731	0,470	0,050	No
Comparisons for factor: Contraste					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	150,153	11,991	3,931E-014	0,050	Yes
Comparisons for factor: Contraste within Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	159,841	9,026	0,000	0,050	Yes
Comparisons for factor: Contraste within No-Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	140,466	7,932	0,000	0,050	Yes
Comparisons for factor: ESTRES within 32					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
No-Estres vs. Estres	0,537	0,0303	0,976	0,050	No
Comparisons for factor: ESTRES within 4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	18,838	1,064	0,295	0,050	No

Anexo 3C

Resultados Niveles plasmáticos de corticosterona, procedimiento A

Two Way Analysis of Variance
Data source: Data 2 in Corticosterona_Contraste
 Dependent Variable: Concentración

Normality Test: Failed (P < 0,050)
Equal Variance Test: Passed (P = 0,549)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ESTRÉS	1	252652,761	252652,761	8,804	0,005
Contraste	1	74785,050	74785,050	2,606	0,115
ESTRÉS x Contraste	1	842,063	842,063	0,0293	0,865
Residual	36	1033062,472	28696,180		
Total	39	1361342,346	34906,214		

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):
 Overall significance level = 0,05

Comparisons for factor: **ESTRÉS**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
No Estres vs. Estres	158,951	2,967	0,00531	0,050	Yes

Comparisons for factor: **Contraste**

Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
32,000 vs. 4,000	86,478	1,614	0,115	0,050	No

t-test
Data source: Data 2 in Corticosterona_Contraste
Normality Test: Failed (P < 0,050)
 Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test
Data source: Data 2 in Corticosterona_Contraste

Group	N	Missing	Median	25%	75%
4% no estrés	10	0	244,028	203,638	334,707
4% estrés	10	0	86,277	59,364	179,432

Mann-Whitney U Statistic= 21,000
 T = 134,000 n(small)= 10 n(big)= 10 (P = 0,031)

t-test
Data source: Data 2 in Corticosterona_Contraste
Normality Test: Failed (P < 0,050)
 Test execution ended by user request, Rank Sum Test begun

Mann-Whitney Rank Sum Test
Data source: Data 2 in Corticosterona_Contraste

Group	N	Missing	Median	25%	75%
32% no estrés	10	0	309,650	272,858	491,110
32% estrés	10	0	88,022	52,333	292,023

Mann-Whitney U Statistic= 21,000
 T = 134,000 n(small)= 10 n(big)= 10 (P = 0,031)

Anexo 4A

Resultados del entrenamiento experimento 2, procedimiento B

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)					
Normality Test:	Failed	(P < 0,050)			
Equal Variance Test:	Failed	(P < 0,050)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Grupo	3	3917,399	1305,800	0,125	0,945
Sujeto(Grupo)	35	365916,394	10454,754		
Ensayo	9	1001608,124	111289,792	70,562	<0,001
Grupo x Ensayo	27	67237,666	2490,284	1,579	0,037
Residual	315	496816,862	1577,196		
Total	389	1947457,319	5006,317		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):					
Comparisons for factor: Grupo					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
32-Estres vs. 4-No-Estres	8,498	4	0,809	0,940	No
32-Estres vs. 32-No-Estres	6,084	4	0,579	0,977	Do Not Test
32-Estres vs. 4-Estres	2,932	4	0,279	0,997	Do Not Test
4-Estres vs. 4-No-Estres	5,566	4	0,544	0,980	Do Not Test
4-Estres vs. 32-No-Estres	3,152	4	0,308	0,996	Do Not Test
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	2,414	4	0,236	0,998	Do Not Test
Comparisons for factor: Ensayo within 4-No-Estres					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Dia 10 vs. Dia 1	196,910	10	15,679	<0,001	Yes
Comparisons for factor: Ensayo within 4-Estres					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Dia 10 vs. Dia 1	207,635	10	16,533	<0,001	Yes
Comparisons for factor: Ensayo within 32-No-Estres					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Dia 10 vs. Dia 1	142,874	10	11,377	<0,001	Yes
Comparisons for factor: Ensayo within 32-Estres					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
Dia 10 vs. Dia 1	131,748	10	9,952	<0,001	Yes

Comparisons for factor: Grupo within Dia 1						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
32-No-Estres vs. 4-Estres	66,129	4	4,212	0,015	Yes	
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	60,294	4	3,840	0,033	Yes	
32-No-Estres vs. 32-Estres	11,714	4	0,726	0,956	No	
32-Estres vs. 4-Estres	54,415	4	3,373	0,080	No	
32-Estres vs. 4-No-Estres	48,580	4	3,012	0,144	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 4-Estres	5,835	4	0,372	0,994	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 2						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
32-Estres vs. 4-No-Estres	33,275	4	2,063	0,463	No	
32-Estres vs. 4-Estres	22,472	4	1,393	0,758	Do Not Test	
32-Estres vs. 32-No-Estres	11,401	4	0,707	0,959	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	21,874	4	1,393	0,758	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 4-Estres	11,071	4	0,705	0,959	Do Not Test	
4-Estres vs. 4-No-Estres	10,803	4	0,688	0,962	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 3						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
4-Estres vs. 4-No-Estres	27,116	4	1,727	0,613	No	
4-Estres vs. 32-Estres	10,209	4	0,633	0,970	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-No-Estres	8,551	4	0,545	0,981	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	18,565	4	1,182	0,837	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 32-Estres	1,658	4	0,103	1,000	Do Not Test	
32-Estres vs. 4-No-Estres	16,907	4	1,048	0,880	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 4						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
32-Estres vs. 32-No-Estres	46,411	4	2,877	0,175	No	
32-Estres vs. 4-No-Estres	22,407	4	1,389	0,760	Do Not Test	
32-Estres vs. 4-Estres	19,990	4	1,239	0,817	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-No-Estres	26,421	4	1,683	0,633	Do Not Test	
4-Estres vs. 4-No-Estres	2,417	4	0,154	1,000	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-No-Estres	24,004	4	1,529	0,701	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 5						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
32-Estres vs. 32-No-Estres	21,150	4	1,311	0,790	No	
32-Estres vs. 4-Estres	18,317	4	1,136	0,853	Do Not Test	
32-Estres vs. 4-No-Estres	10,597	4	0,657	0,967	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-No-Estres	10,553	4	0,672	0,965	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 4-Estres	7,720	4	0,492	0,986	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-No-Estres	2,833	4	0,180	0,999	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 6						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
4-Estres vs. 32-No-Estres	29,858	4	1,902	0,534	No	
4-Estres vs. 32-Estres	16,313	4	1,011	0,891	Do Not Test	
4-Estres vs. 4-No-Estres	3,645	4	0,232	0,998	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-No-Estres	26,213	4	1,670	0,639	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-Estres	12,668	4	0,785	0,945	Do Not Test	
32-Estres vs. 32-No-Estres	13,545	4	0,840	0,934	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 7						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
4-Estres vs. 32-No-Estres	24,961	4	1,590	0,675	No	
4-Estres vs. 4-No-Estres	20,156	4	1,284	0,801	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-Estres	9,526	4	0,591	0,975	Do Not Test	
32-Estres vs. 32-No-Estres	15,435	4	0,957	0,906	Do Not Test	
32-Estres vs. 4-No-Estres	10,630	4	0,659	0,966	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-No-Estres	4,805	4	0,306	0,996	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 8						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
4-Estres vs. 32-Estres	12,769	4	0,792	0,944	No	
4-Estres vs. 32-No-Estres	6,971	4	0,444	0,989	Do Not Test	
4-Estres vs. 4-No-Estres	3,454	4	0,220	0,999	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-Estres	9,315	4	0,577	0,977	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-No-Estres	3,517	4	0,224	0,999	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 32-Estres	5,798	4	0,359	0,994	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 9						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
4-No-Estres vs. 32-Estres	18,857	4	1,169	0,842	No	
4-No-Estres vs. 32-No-Estres	13,763	4	0,877	0,926	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 4-Estres	3,267	4	0,208	0,999	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-Estres	15,590	4	0,966	0,903	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-No-Estres	10,496	4	0,669	0,965	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 32-Estres	5,094	4	0,316	0,996	Do Not Test	
Comparisons for factor: Grupo within Dia 10						
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05	
32-No-Estres vs. 32-Estres	22,840	4	1,416	0,749	No	
32-No-Estres vs. 4-No-Estres	6,258	4	0,399	0,992	Do Not Test	
32-No-Estres vs. 4-Estres	1,368	4	0,0871	1,000	Do Not Test	
4-Estres vs. 32-Estres	21,472	4	1,331	0,783	Do Not Test	
4-Estres vs. 4-No-Estres	4,890	4	0,311	0,996	Do Not Test	
4-No-Estres vs. 32-Estres	16,582	4	1,028	0,886	Do Not Test	

Anexo 4B

Resultados Día 11 experimento 2, procedimiento B

Two Way Analysis of Variance					
Dependent Variable: Consumo día 11					
Normality Test:	Passed	(P = 0,694)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,999)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ESTRES	1	1019,229	1019,229	0,591	0,447
Contraste	1	205482,951	205482,951	119,174	<0,001
ESTRES x Contraste	1	1,054	1,054	0,000611	0,980
Residual	35	60347,800	1724,223		
Total	38	267885,163	7049,610		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):					
Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: ESTRES					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	10,235	0,769	0,447	0,050	No
Comparisons for factor: Contraste					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	145,324	10,917	8,134E-013	0,050	Yes
Comparisons for factor: Contraste within Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	145,653	7,634	0,000	0,050	Yes
Comparisons for factor: Contraste within No-Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	144,995	7,808	0,000	0,050	Yes
Comparisons for factor: ESTRES within 32					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	9,906	0,519	0,607	0,050	No
Comparisons for factor: ESTRES within 4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	10,564	0,569	0,573	0,050	No

Anexo 4C

Resultados Día 12 experimento 2, procedimiento B

Two Way Analysis of Variance					
Dependent Variable: Consumo día 12					
Normality Test:	Passed	(P = 0,674)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,987)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ESTRES	1	1441,691	1441,691	0,802	0,377
Contraste	1	68805,620	68805,620	38,268	<0,001
ESTRES x Contraste	1	9,912	9,912	0,00551	0,941
Residual	35	62929,401	1797,983		
Total	38	133774,422	3520,380		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):					
Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: ESTRES					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	12,173	0,895	0,377	0,050	No
Comparisons for factor: Contraste					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	84,093	6,186	0,000000439	0,050	Yes
Comparisons for factor: Contraste within Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	85,103	4,368	0,000	0,050	Yes
Comparisons for factor: Contraste within No-Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	83,084	4,381	0,000	0,050	Yes
Comparisons for factor: ESTRES within 32					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	11,163	0,573	0,570	0,050	No
Comparisons for factor: ESTRES within 4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	13,182	0,695	0,492	0,050	No

Anexo 4D

Resultados Día 13 experimento 2, procedimiento B

Two Way Analysis of Variance					
Dependent Variable: Consumo día 13					
Normality Test:	Passed	(P = 0,385)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,894)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ESTRES	1	116,372	116,372	0,106	0,747
Contraste	1	33310,787	33310,787	30,205	<0,001
ESTRES x Contraste	1	7,270	7,270	0,00659	0,936
Residual	35	38598,653	1102,819		
Total	38	72208,884	1900,234		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):					
Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: ESTRES					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	3,458	0,325	0,747	0,050	No
Comparisons for factor: Contraste					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	58,512	5,496	0,0000357	0,050	Yes
Comparisons for factor: Contraste within Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	57,647	3,778	0,001	0,050	Yes
Comparisons for factor: Contraste within No-Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	59,376	3,998	0,000	0,050	Yes
Comparisons for factor: ESTRES within 32					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	4,323	0,283	0,779	0,050	No
Comparisons for factor: ESTRES within 4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	2,594	0,175	0,862	0,050	No

Anexo 4E

Resultados Día 14 experimento 2, procedimiento B

Two Way Analysis of Variance					
Dependent Variable: Consumo día 14					
Normality Test:	Passed	(P = 0,095)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,627)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ESTRES	1	53,327	53,327	0,0435	0,836
Contraste	1	18225,231	18225,231	14,854	<0,001
ESTRES x Contraste	1	0,0937	0,0937	0,0000763	0,993
Residual	35	42942,911	1226,940		
Total	38	61301,621	1613,201		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):					
Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: ESTRES					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	2,341	0,208	0,836	0,050	No
Comparisons for factor: Contraste					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	43,280	3,854	0,000475	0,050	Yes
Comparisons for factor: Contraste within Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	43,182	2,683	0,011	0,050	Yes
Comparisons for factor: Contraste within No-Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	43,378	2,769	0,009	0,050	Yes
Comparisons for factor: ESTRES within 32					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	2,439	0,152	0,880	0,050	No
Comparisons for factor: ESTRES within 4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	2,243	0,143	0,887	0,050	No

Anexo 4F

Resultados Día 15 experimento 2, procedimiento B

Two Way Analysis of Variance					
Dependent Variable: Consumo día 15					
Normality Test:	Passed	(P = 0,776)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,385)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ESTRES	1	610,928	610,928	0,572	0,455
Contraste	1	8042,789	8042,789	7,529	0,010
ESTRES x Contraste	1	133,128	133,128	0,125	0,726
Residual	35	37389,757	1068,279		
Total	38	46266,443	1217,538		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):					
Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: ESTRES					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	7,924	0,756	0,455	0,050	No
Comparisons for factor: Contraste					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	28,751	2,744	0,00951	0,050	Yes
Comparisons for factor: Contraste within Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	32,450	2,161	0,038	0,050	Yes
Comparisons for factor: Contraste within No-Estres					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4,000 vs. 32,000	25,052	1,714	0,095	0,050	No
Comparisons for factor: ESTRES within 32					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	4,225	0,281	0,780	0,050	No
Comparisons for factor: ESTRES within 4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
Estres vs. No-Estres	11,623	0,795	0,432	0,050	No

Anexo 4G

Resultados grupos del procedimiento A vs. Grupos del procedimiento B

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)					
Data source: 4% NoEstrés Procedimiento A vs. B					
Normality Test:	Failed	(P < 0,050)			
Equal Variance Test:	Passed	(P = 0,179)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Grupo	1	3652,586	3652,586	0,403	0,533
Sujeto(Grupo)	18	163041,746	9057,875		
Ensayo	10	740504,447	74050,445	55,631	<0,001
Grupo x Ensayo	10	5375,537	537,554	0,404	0,944
Residual	180	239598,773	1331,104		
Total	219	1152173,089	5261,064		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):					
Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: Grupo within Dia 1					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4-No-E-ProB vs. 4-No-E-ProA	0,851	0,0422	0,966	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 2					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4-No-E-ProA vs. 4-No-E-ProB	6,106	0,303	0,763	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 3					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4-No-E-ProB vs. 4-No-E-ProA	15,859	0,786	0,434	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4-No-E-ProB vs. 4-No-E-ProA	9,430	0,468	0,641	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 5					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4-No-E-ProB vs. 4-No-E-ProA	23,251	1,153	0,252	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 6					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4-No-E-ProB vs. 4-No-E-ProA	19,574	0,971	0,334	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 7					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4-No-E-ProA vs. 4-No-E-ProB	11,060	0,548	0,585	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 8					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4-No-E-ProB vs. 4-No-E-ProA	8,513	0,422	0,674	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 9					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4-No-E-ProB vs. 4-No-E-ProA	13,589	0,674	0,502	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 10					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4-No-E-ProB vs. 4-No-E-ProA	7,660	0,380	0,705	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 11					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
4-No-E-ProB vs. 4-No-E-ProA	8,081	0,401	0,690	0,050	No

Efectos de la exposición a estrés agudo en la ejecución de tareas de omisión de recompensa y en los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas wistar

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)					
Data source: 4% Estrés Procedimiento A vs. B					
Normality Test:	Failed	(P < 0,050)			
Equal Variance Test:	Failed	(P < 0,050)			
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Grupo	1	2050,822	2050,822	0,211	0,651
Sujeto(Grupo)	18	174672,261	9704,014		
Ensayo	10	747398,007	74739,801	75,808	<0,001
Grupo x Ensayo	10	5696,120	569,612	0,578	0,831
Residual	180	177462,483	985,903		
Total	219	1107279,693	5056,072		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):					
Comparisons for factor: Grupo within Dia 1					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
4-Estres-Pro vs. 4-Estres-Pro	11,919	2	0,894	0,530	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 2					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
4-Estres-Pro vs. 4-Estres-Pro	10,253	2	0,769	0,589	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 3					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
4-Estres-Pro vs. 4-Estres-Pro	7,578	2	0,568	0,689	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 4					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
4-Estres-Pro vs. 4-Estres-Pro	3,929	2	0,295	0,836	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 5					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
4-Estres-Pro vs. 4-Estres-Pro	0,883	2	0,0662	0,963	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 6					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
4-Estres-Pro vs. 4-Estres-Pro	24,238	2	1,818	0,203	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 7					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
4-Estres-Pro vs. 4-Estres-Pro	22,034	2	1,652	0,247	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 8					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
4-Estres-Pro vs. 4-Estres-Pro	2,808	2	0,211	0,882	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 9					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
4-Estres-Pro vs. 4-Estres-Pro	8,717	2	0,654	0,646	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 10					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
4-Estres-Pro vs. 4-Estres-Pro	8,466	2	0,635	0,655	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 11					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
4-Estres-Pro vs. 4-Estres-Pro	0,193	2	0,0145	0,992	No

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)

Data source: 32% No-estrés Procedimiento A vs. B

Normality Test: Failed (P < 0,050)
 Equal Variance Test: Failed (P < 0,050)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Grupo	1	7521,113	7521,113	0,617	0,443
Sujeto(Grupo)	18	219535,694	12196,427		
Ensayo	10	508333,439	50833,344	29,547	<0,001
Grupo x Ensayo	10	4823,099	482,310	0,280	0,985
Residual	180	309676,584	1720,425		
Total	219	1049889,930	4794,018		

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Grupo within Dia 1**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
32-No-E-ProA vs. 32-No-E-ProB	18,156	2	1,111	0,435	No

Comparisons for factor: **Grupo within Dia 2**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
32-No-E-ProA vs. 32-No-E-ProB	23,289	2	1,425	0,317	No

Comparisons for factor: **Grupo within Dia 3**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
32-No-E-ProA vs. 32-No-E-ProB	10,941	2	0,669	0,637	No

Comparisons for factor: **Grupo within Dia 4**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
32-No-E-ProA vs. 32-No-E-ProB	21,913	2	1,340	0,346	No

Comparisons for factor: **Grupo within Dia 5**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
32-No-E-ProA vs. 32-No-E-ProB	22,298	2	1,364	0,338	No

Comparisons for factor: **Grupo within Dia 6**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
32-No-E-ProA vs. 32-No-E-ProB	5,265	2	0,322	0,821	No

Comparisons for factor: **Grupo within Dia 7**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
32-No-E-ProA vs. 32-No-E-ProB	12,059	2	0,738	0,603	No

Comparisons for factor: **Grupo within Dia 8**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
32-No-E-ProA vs. 32-No-E-ProB	16,407	2	1,004	0,480	No

Comparisons for factor: **Grupo within Dia 9**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
32-No-E-ProA vs. 32-No-E-ProB	5,569	2	0,341	0,810	No

Comparisons for factor: **Grupo within Dia 10**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
32-No-E-ProB vs. 32-No-E-ProA	3,712	2	0,227	0,873	No

Comparisons for factor: **Grupo within Dia 11**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,05
32-No-E-ProB vs. 32-No-E-ProA	3,552	2	0,217	0,878	No

Efectos de la exposición a estrés agudo en la ejecución de tareas de omisión de recompensa y en los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas wistar

Two Way Repeated Measures ANOVA (One Factor Repetition)					
Data source: 32% Estrés Procedimiento A vs. B					
Normality Test:	Passed				(P = 0,076)
Equal Variance Test:	Passed				(P = 0,310)
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Grupo	1	5942,622	5942,622	0,438	0,517
Sujeto(Grupo)	17	230783,780	13575,516		
Ensayo	10	366053,819	36605,382	19,096	<0,001
Grupo x Ensayo	10	24363,955	2436,396	1,271	0,250
Residual	170	325874,957	1916,912		
Total	208	949173,723	4563,335		
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):					
Overall significance level = 0,05					
Comparisons for factor: Grupo within Dia 1					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
32-E-ProA vs. 32-E-ProB	31,448	1,254	0,213	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 2					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
32-E-ProA vs. 32-E-ProB	10,729	0,428	0,670	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 3					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
32-E-ProA vs. 32-E-ProB	10,167	0,406	0,686	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 4					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
32-E-ProB vs. 32-E-ProA	31,988	1,276	0,206	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 5					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
32-E-ProB vs. 32-E-ProA	52,736	2,104	0,038	0,050	Yes
Comparisons for factor: Grupo within Dia 6					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
32-E-ProB vs. 32-E-ProA	23,486	0,937	0,352	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 7					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
32-E-ProB vs. 32-E-ProA	16,078	0,641	0,523	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 8					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
32-E-ProB vs. 32-E-ProA	13,670	0,545	0,587	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 9					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
32-E-ProB vs. 32-E-ProA	4,818	0,192	0,848	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 10					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
32-E-ProB vs. 32-E-ProA	13,045	0,520	0,604	0,050	No
Comparisons for factor: Grupo within Dia 11					
Comparison	Diff of Means	t	Unadjusted P	Critical Level	Significant?
32-E-ProB vs. 32-E-ProA	13,995	0,558	0,578	0,050	No

CURRICULUM VITAE

Formación Académica

2010-En curso. Maestría en Psicología, Área de Neurociencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C., Colombia

2005-2009. Psicóloga, Área de Neurociencias. Trabajo de Grado: Efectos de la inyección sistémica de corticosterona sobre la recuperación en una tarea de memoria espacial. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C., Colombia

Experiencia investigativa

Asistente de Investigación

Tesis de Maestría: Evaluación de los cambios en la marcación de proteína fos en dos protocolos de aprendizaje espacial en el laberinto circular de Barnes

Sandra Ortega, Ps, Ms

Junio – Julio 2011

Proyecto: Cambios en los niveles de cortisol inducidos por estrés social en hombres y mujeres usando el Trial Social Stress Test

Laboratorio de Neurociencias, Universidad Nacional de Colombia

2011

Proyecto: Inyección sistémica de corticosterona sobre la memoria espacial usando dos protocolos de aprendizaje

Laboratorio de Neurociencias, Universidad Nacional de Colombia

Agosto – Diciembre 2009

Pasantía

Laboratorio de Investigación en Frustración, Director: Mauricio R. Papini, PhD

Texas Christian University, Fort Worth, TX, Estados Unidos de América

Marzo – Mayo 2010

Experiencia Docente y Profesional

Curso: Aprendizaje, dirigido a estudiantes de pregrado en Psicología

Asistente Docente

Departamento de Psicología, Universidad Nacional de Colombia

Segundo Semestre, 2011

Curso: Memoria, dirigido a estudiantes de pregrado en Psicología

Docente

Departamento de Psicología, Universidad Nacional de Colombia

Segundo Semestre, 2010

Monitor Becario

Curso: Bases biológicas del comportamiento

Departamento de Psicología, Universidad Nacional de Colombia

Febrero – Julio 2009

Estudiante Auxiliar

Laboratorio de Aprendizaje y Comportamiento Animal

Departamento de Psicología, Universidad Nacional de Colombia

Enero – Julio 2011

Publicaciones

Cárdenas, C., y Prado, M. (2011). Efecto del estrés social en Hombres y mujeres sobre la activación de la corteza orbitofrontal asociada a una tarea de reversión de contingencias de recompensa y castigo. Documentos FCE-CID Escuela de Economía: Universidad Nacional de Colombia, Documento EE 27, 1-9

Cooper, B. (2011). De Darwin a la neuroetología: El papel de la selección sexual en la evolución de la complejidad acústica del canto de las aves. (Traducción del Texto Original en Inglés). En Gutiérrez, G., y Papini, M. (Eds.) Darwin y las Ciencias del Comportamiento. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia y Colegio Colombiano de Psicólogos.

Cárdenas, C., Prado, M. (2011). Reseña: ¿Y si la pasantía es en el exterior? Revista Estudiantil Laberinto, Universidad Nacional de Colombia, 10 (2), 38 – 39

Presentación de Trabajos

Reinterpreting the role of chlordiazepoxide in reward downshift: Emotion, memory, or both?

Ortega, L., Glueck, A., Daniel, A., Prado, M., y Papini, M.

Sexta División, Convención anual de la American Psychological Association

Póster

Washington D.C., Estados Unidos, Agosto, 2011

Efectos de la inyección sistémica de corticosterona en la recuperación y la extinción de una tarea de memoria espacial utilizando dos protocolos de entrenamiento

Cárdenas, C., Prado, M., Lamprea, M.

VII Encuentro Nacional y VIII Seminario Internacional de Neurociencias

Póster

Ibagué, Colombia, 2010

Efectos de la administración sistémica de corticosterona en la recuperación de la memoria episódica en ratas.

IV Congreso Nacional de Innovaciones en Psicología y Salud Mental

Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia, 2009

La discriminación como factor determinante de la elección en una caja contextual bajo un procedimiento de ensayos discretos

Buriticá, J., Garzón, K., Prado, M.

V Encuentro de Ciencias del Comportamiento y V Encuentro de Medición y Evaluación

Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia, 2007

Bibliografía

- Acosta, M. (2007). Determinación de niveles de corticosterona en ratos norvegicus sometidas a estrés agudo por restricción de movimientos. Trabajo de Grado. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá
- Albonetti, M., y Farabollini, F. (1995). Effects of single restraint on the defensive behavior of male and female rats. *Physiology & Behavior*, 57(3), 431-437
- Amsel, A. (1992). Frustration theory. An analysis of dispositional learning and memory. New York: Cambridge, University Press
- Amsel, A., Radek, C., Graham, M., y Letz., R. (1977). Ultrasound emission in infant rats as an indicant of arousal during appetitive learning and extinction. *Science*, 197, 786-788
- Bentosela, M., Ruetti, E., Muzio, R., Mustaca, A., y Papini, M. (2006). Administration of corticosterone after the first downshift trial enhances consummatory successive negative contrast. *Behavioral Neuroscience*, 120(2), 371-376
- Blank, T., Nijholt, I., Vollstaedt, S., y Spiess, J. (2003) The corticotrophin-releasing factor receptor 1 antagonist CP-154,526 reverses stress-induced learning deficits in mice. *Behavioural Brain Research*, 138, 207-213
- Bouton, M. (2002). Context, ambiguity, and unlearning: Sources of relapse after behavioral extinction. *Biological Psychiatry*, 52, 976-986
- Bouton, M., Westbrook, R., Corcoran, K., y Maren, S. (2006). Contextual and temporal modulation of extinction: behavioral and biological mechanisms, *Biological Psychiatry*, 60, 352-360
- Buynitsky, T., y Mostofsky, D. (2009). Restraint stress in biobehavioral research: Recent developments. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 33, 1089-1098
- Capaldi, E. (1972). Successive negative contrast effect: Intertrial interval, type of shift, and four sources of generalization decrement. *Journal of Experimental Psychology*, 96, 433-438

- Cárdenas, D. (2009). Efectos de la inyección sistémica de corticosterona sobre la extinción en el Laberinto circular de Barnes. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias Humanas, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá
- Carrillo-Mora, P., Giordano, M., y Santamaría, A. (2009). Spatial memory: Theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. *Behavioural Brain Research*, 203, 151–164
- Coover, G., Goldman, L., y Levine, S. (1971a). Plasma corticosterone increases produced by extinction of operant behavior in rats. *Physiology and Behavior*, 6, 261-263
- Coover, G., Goldman, L., y Levine, S. (1971b). Plasma corticosterone levels during extinction of a lever-press response in hippocampectomized rats. *Physiology & Behavior*, 7, 727-732
- Cordero, M., Merino, J., y Sandi, C. (1998). Correlational relationship between shock intensity and corticosterone secretion on the establishment and subsequent expression of contextual fear conditionin. *Behavioral Neuroscience*, 112(4), 885-891
- Crespi, L. (1942). Quantitative variation in incentive and performance in the white rat. *The American Journal of Psychology*, 40, 467-517
- Cuestas, M. (2007). El estrés agudo modifica la recuperación y la extinción de la memoria espacial en función de su intensidad. Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Colombia – Sede Bogotá
- D'Hooge, R., y Deyn de, P. (2001). Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews*, 36, 60-90
- Dal-Zotto, S., Martí, O., y Armario, A. (2006). Glucocorticoids are involved in the long-term effects of a single immobilization stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Psychoneuroendocrinology*, 28, 992-1009
- Dallman, M., Pecoraro, N., La Fleur, S., Warne, J., Ginsberg, ... y Bell, M. (2009). Glucocorticoids, chronic stress, and obesity. En Kalsbeek, Fliers, Hofman, Swaab, Van Someren y Buijs (Eds.) *Progress in Brain Research*, Vol. 153 (pp. 75-105). Elsevier B.V.

- Daniel, A., Wood, M., Pellegrini, S., Norris, J., y Papini, M. (2008). Can contextual cues control consummatory successive negative contrast? *Learning and Motivation*, 39(2), 146-162
- Devenport, L. (1984). Extinction-induced spatial dispersion in the radial arm maze: Arrest by ethanol. *Behavioral Neuroscience*, 98(6), 979-985
- Dickinson, A. (1989). Expectancy theory in animal conditioning. En S. Klein, y R. Mowrer (Eds.). *Contemporary Learning Theories: Pavlovian Conditioning and the Status of Learning Theory* (pp 279-308). New Jersey: Erlbaum, Hillsdale
- Domjan, M. (2010). *The principles of Learning and Behavior*, 6th Edition. Belmont: Wadsworth, Cengage Learning
- Elliot, M. (1928). The effect of change of reward on the maze performance of rats. *University of California Publications in Psychology*, 4, 19-30
- Falls, W. A., Miserendino M. J., y Davis, M. (1992). Extinction of fear-potentiated startle: Blockade by infusion of an NMDA antagonist into the amygdale. *Journal of Neuroscience*, 12, 854-863
- Flaherty, C. (1996). *Problems in the behavioral sciences: Incentive relativity*. United Kingdom: Cambridge University Press
- Flaherty, C., Becker, H. y Checke, S. (1983). Repeated contrast in consummatory and open field behaviors with repeated reward shifts. *Animal Learning & Behavior*, 11, 407-414
- Flaherty, C., Becker, H., y Osborne, M. (1983). Negative contrast following regularly increasing concentrations of sucrose solutions: Rising expectations or incentive averaging? *The Psychological Record*, 33, 415-420.
- Flaherty, C. Blitzer, R., y Collier, G. (1978). Open field behaviors elicited by reward reduction. *American Journal of Psychology*, 91, 429-443
- Flaherty, C., Clark, S., y Coppotelli, C. (1996). Lack of tolerance to contrast-reducing actions of chlordiazepoxide with repeated reward reductions. *Physiology & Behavior*, 60(2), 645-652
- Gameiro, G., Gameiro, P., da Silva, A., Pereira, L., Arthuri, M., Marcondes, F., y Ferraz de Arruda, M. (2006). Nociception- and anxiety-like behavior in rats submitted to different periods of restraint stress. *Physiology & Behavior*, 87, 643-649
- Garrud, P., Gray, J., y Weid de, D. (1974). Pituitary-adrenal hormones and extinction of rewarded behavior in the rat. *Physiology and Behavior*, 12, 109-119

- Harris, R., Zhou, J., Youngblood, B., Smagin, G., y Ryan, D. (1997). Failure to change exploration or saccharin preference in rats exposed to chronic mild stress. *Physiology and Behavior*, 63(1), 91-100
- Harrison, F., Hosseini, A., y McDonald, M. (2009). Endogenous anxiety and stress responses in water maze and barnes maze spatial memory tasks. *Behavioural Brain Research*, 198, 247–251
- Herman, J. (2009) Stress response: Neural and feedback regulation of the HPA axis. In L. Squire, (ed.), *Encyclopedia of Neuroscience* (pp. 505-510) Academic Press
- Holson, R. (1992). Euthanasia by decapitation: Evidence that this technique prompt, painless unconsciousness in laboratory rodents. *Neurotoxicology and Teratology*, 14, 253-257
- Ishida, M., y Papini, M. (1997). Massed-trial overtraining effects on extinction and reversal performance in turtles (*Geoclemys reevesii*). *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 50b, 1-16
- Joëls, M., Pu, Z., Wiegert, O., Oitzl, M., y Krugers, H. (2006). Learning under stress: how does it work? *Trends in Cognitive Sciences*, 10(4), 152-158
- Jozsa, R., Olah, A., Cornélissen, G., Csernus, V., Otsuka, K., Zeman, M., ... y Halberg, F. (2005). Circadian and extracircadian exploration during daytime hours of circulating corticosterone and other endocrine chronomes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 59, 109-116
- Kandel, E., Schwartz, J., y Jessell, T. (2000). *Principles of Neural Science*. Cuarta Edición. New York: McGraw-Hill
- Katz, R., Roth, K., y Carroll, B. (1981). Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: Implications for a model of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 5(2), 247-251
- Kawasaki, K., y Iwasaki, T. (1997). Corticosterone levels during extinction of runway response in rats. *Life Sciences*, 61(17), 1721-1728

- Khaksari, M., Rashidy-Pour, A., y Vafaei, A. (2007). Central mineralocorticoid receptors are indispensable for corticosterone-induced impairment of memory retrieval in rats. *Neuroscience*, 149, 729-738
- Kloet de, E., Oitzl, M., y Joëls, M. (1999). Stress and cognition: Are corticosteroids good or bad guys? *Trends in Neurosciences*, 22(10), 422-426
- Kofman, O., Levin, U., y Alpert, C. (1995). Lithium attenuates hypokinesia induced by immobilization stress in rats. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 19, 1081-1090
- Kurumaji, A., Umino, M., y Nishikawa, T. (2011). Effects of novelty stress on hippocampal gene expression, corticosterone and motor activity in mice. *Neuroscience Research*, 71, 161-167
- Levine, S. y Ursin, H. (1991). What is stress? En M. Brown, G., Koob y G., Rivier (Eds.) *Stress: Neurobiology and Neuroendocrinology* (pp. 3-21). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Lombardi, B. y Flaherty, C. (1978). Apparent disinhibition of successive but not of simultaneous negative contrast. *Animal Learning & Behavior*, 6, 30-42
- Lupien, S. (2009). Brain under Stress, *Canadian Journal of Psychiatry*, 54, (1), 4-5
- Lupien, S., y McEwen, B. (1997). The acute effects of corticosteroids on cognition: Integration of animal and human model studies. *Brain Research Reviews*, 24, 1 – 27
- Malisch, J., Breuner, C., Gomes, F., Chappell, M., y Garland Jr., T. (2008). Circadian pattern of total and free corticosterone concentrations, corticosteroid-binding globulin, and physical activity in mice selectively bred for high voluntary Wheel-running behavior. *General and Comparative Endocrinology* 156, 210-217
- McGaugh J. (2004). The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annual Review of Neuroscience*, 27, 1-28
- Mitchell, C., y Flaherty, C. (1998). Temporal dynamics of corticosterone elevation in successive negative contrast. *Physiology and Behavior*, 64, 287 – 292
- Nooshinfar, E., Akbarzadeh-Baghiban, A., y Meisami, E. (2011). Effects of increasing durations of immobilization stress on plasma corticosterone level, learning and memory and hippocampal BDNF gene expression in rats. *Neuroscience Letters*, 500, 63-66
- Oitzl, M., y Kloet de, R. (1992). Selective corticosteroid antagonists modulate specific aspects of spatial orientation learning. *Behavioral Neuroscience*, 106(1), 62-71

- Ortega, L., y Papini, M. (2007). El estudio del contraste entre incentivos: la contribución de Abram Amsel. *Revista Latinoamericana de Psicología*, 39, (3), 609 – 621
- Papini, M. (2003). Comparative psychology of surprising nonreward. *Brain, Behavior and Evolution*, 62, 83-95
- Papini M., y Duddley, T. (1997). Consequences of surprising reward omissions. *Review of General Psychology*, 1, (2), 175 – 197
- Papini, M., Wood, M., Daniel, A., y Norris, J. (2006). Reward loss as psychological pain. *International Journal of Psychology and Psychological Therapy*, 6(2), 189-213
- Pardon, M., Pérez-Díaz, F., Joubert, C., y Cohen-Salmon, C. (2000). Age-dependent effects of a chronic ultramild stress procedure on open-field behavior in B6D2F1 female mice. *Physiology & Behavior*, 70(1-2), 7-13
- Pavlov, I. (1927). *Conditioned Reflexes: An investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex*. London: Oxford University Press
- Pecoraro, N., y Dallman, M. (2009). Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. In L. Squire, (ed.), *Encyclopedia of Neuroscience* (pp. 65-74) Academic Press
- Pecoraro, N., de Jong, H. y Dallman, M. (2009). An unexpected reduction in sucrose concentration activates the HPA axis on successive postshift days without attenuation by discriminative contextual stimuli. *Physiology & Behavior*, 96, 651–661
- Pellegrini, S. y Mustaca, A. (2000). Consummatory Successive Negative Contrast with solid food. *Learning and Motivation*, 31, 200 – 209
- Prado, M. (2009). Efectos de la inyección sistémica de corticosterona sobre la recuperación en una tarea de memoria espacial. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia – Sede Bogotá
- Quervain de, D., Aerni, A., Schelling, G., y Roozendaal, B. (2009). Glucocorticoids and the regulation of memory in health and disease. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30, 358-370
- Quirk, G., y Mueller, D. (2008). Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *Neuropsychopharmacology Reviews*, 33, 56-72
- Rashidy-Pour, A., Sadeghi, H., Taherain, A., Vafaei, A., y Fathollahi, Y. (2004). The effects of acute restraint stress and dexamethasone on retrieval of long-term

- memory in rats: An interaction with opiate system. *Behavioural Brain Research*, 154, 193-198
- Rescorla, R. (2001). Experimental extinction. En R. Mowrer y S. Klein (Eds.), *Contemporary Learning Theories: Pavlovian Conditioning and the Status of Learning Theory* (pp 119-154). New Jersey: Erlbaum, Hillsdale
- Reul, J., y Kloet de, E. (1985). Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*, 117, 2505 – 2511
- Riley, E. y Dunlap, W. (1979). Successive negative contrast as a function of deprivation condition following shifts in sucrose concentration. *American Journal of Psychology*, 92, 59-70
- Ruetti, E., Justel, N., Mustaca, A., y Papini, M. (2009). Posttrial corticosterone administration enhances the effects of incentive downshift: Exploring the boundaries of this effect. *Behavioral Neuroscience*, 123(1), 137-144
- Sadowski, R., Jackson, G., Wiczorek, L., y Gold, P. (2009). Effects of stress, corticosterone, and epinephrine administration on learning in place and response tasks. *Behavioural Brain Research*, 205, 19-25
- Salinas, J., Williams, C., y McGaugh, J. (1996). Peripheral post-training administration of 4-OH amphetamine enhances retention of a reduction in reward magnitude. *Neurobiology of Learning and Memory*, 65, 192 – 195
- Sandi, C., Loscertales, M., y Guaza, C. (1997). Experience-dependent facilitating effect of corticosterone on spatial memory formation in the water maze. *European Journal of Neuroscience*, 9, 637-642
- Sandi, C., y Pinelo-Nava, T. (2007). Stress and memory: Behavioral effects and neurobiological mechanisms. *Neural Plasticity*, 1-20
- Sandi, C., Venero, C., y Cordero, M., (2001). Estrés, memoria y trastornos asociados: Implicaciones en el daño cerebral y el envejecimiento. Barcelona: Editorial Ariel S.A
- Sara, S. (2000). Retrieval and reconsolidation: Toward a neurobiology of remembering. *Learning and Memory*, 7, 73-84
- Sorg, B., Bailie, T., Tschirgi, M., Li, N., y Wu, W. (2001). Exposure to repeated low-level formaldehyde in rats increases basal corticosterone levels and enhances the corticosterone response to subsequent formaldehyde. *Brain Research*, 898, 314-320

- Stamp, J., Mashoodh, R., Kampen van, J., y Robertson, H. (2008). Food restriction enhances peak corticosterone levels, cocaine-induced locomotor activity, and Δ fosB expression in the nucleus accumbens of the rat. *Brain Research*, 1204, 94-101
- Sunyer B, Patil S, Hoger H, y Lubec G. (2007). Barnes maze, a useful task to assess spatial reference memory in the mice. *Nature Protocols*, 390, 10 – 38
- Thomas, B., y Papini, M. (2001). Adrenalectomy eliminates the extinction spike in autoshaping with rats. *Physiology & Behavior*, 72, 543-547
- Tinklepaugh, O. (1928). An experimental study of representative factors in monkeys. *Journal of Comparative Psychology*, 8, 197-236
- Tolman, E. (1959). Principles of purposive behavior. In S. Koch (Ed.), *Psychology: A study of a science*, Volume 2. General systematic formulations, learning, and special processes (pp. 92-157). New York: McGraw-Hill
- Torres, A. (2006). Efectos del estrés agudo por restricción motora sobre la recuperación y la extinción de una tarea espacial en ratas. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia – Sede Bogotá
- Torres, C., Cándido, A., Escarabajal, M., Torre de la, L., Maldonado, A., Tobeña, A., y Fernández-Teruel, A. (2005). Successive negative contrast in one-way avoidance learning in female roman rats. *Physiology & Behavior*, 85, 377 – 382
- Troncoso, J., Lamprea, M., Cuestas, D., y Múnera, A. (2010). El estrés agudo interfiere con la evocación y promueve la extinción de la memoria espacial en el laberinto de Barnes. *Acta Biológica Colombiana*, 15(1), 207 – 222
- Tsuda, A., Ida, Y., Satoh, H., Tsujimaru, S., y Tanaka, M. (1989). Stressor predictability and rat brain noradrenaline metabolism. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 32, 569-572
- Ursin, H., y Eriksen, H. (2004). The cognitive activation theory of stress. *Psychoneuroendocrinology*, 29, 567-592
- Vargas-López, D. (2009). Efectos de la inhibición de la síntesis de proteínas de novo sobre la extinción de un aprendizaje espacial en el laberinto de barnes. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Humanas, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá

- Vargas-López, V., Lamprea, M., y Múnera, A. (2011). Characterizing spatial extinction in an abbreviated version of the Barnes Maze. *Behavioural Processes*, 86(1), 30-38
- Weidemann, G. (2005). Savings and recovery after extinction of a classically conditioned response in the rabbit. Tesis de doctorado. University of New South Wales
- Whishaw, I., y Kolb, B. (2005). *The behavior of the laboratory rat*. Oxford: University Press
- Yang, Y., Chao, P., y Lu, K. (2006). Systemic and intra-amygdala administration of glucocorticoid agonist and antagonist modulate extinction of conditioned fear. *Neuropsychopharmacology*, 31, 912-924
- Zeaman, D. (1949). Response latency as a function of the amount of reinforcement. *Journal of Experimental Psychology*, 39, 466-483