

FACULTAD  
DE CIENCIAS  
ECONÓMICAS



## REPOSITORIO DIGITAL UNIVERSITARIO (RDU-UNC)

# Modelo lineal mixto aplicado al estudio del mecanismo sináptico subyacente al aprendizaje del condicionamiento clásico del parpadeo

Silvia Joeques, Andrea Fabiana Righetti, María Rosa Yacci

Ponencia presentada en XLI Coloquio Argentino de Estadística realizado en 2013 en la Facultad de Ciencias Económicas - Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza. Argentina



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

# MODELO LINEAL MIXTO APLICADO AL ESTUDIO DEL MECANISMO SINÁPTICO SUBYACENTE AL APRENDIZAJE DEL CONDICIONAMIENTO CLÁSICO DEL PARPADEO

JOEKES, SILVIA ; RIGHETTI, ANDREA ; YACCI, MARÍA ROSA

Instituto de Estadística y Demografía – Facultad de Ciencias Económicas – UNC

## INTRODUCCION

El trabajo consistió en estudiar los mecanismos sinápticos subyacentes al aprendizaje usando un paradigma bien entendido: condicionamiento clásico del parpadeo en conejos. El parpadeo condicionado consiste de un estímulo condicionado (como un tono) y un estímulo incondicionado (como un soplo de aire a los ojos). Cuando el tono precede al soplo de aire y estos se presentan conjuntamente en varias ocasiones, se provoca una respuesta de parpadeo o respuesta condicionada. La hipótesis central es que los receptores en las sinapsis excitatorias e inhibitorias en el núcleo interpositus (IP) del cerebelo cambian como resultado de parpadeo condicionado. El propósito de este estudio estuvo referido a determinar si los animales aprenden a cerrar el párpado cuando reciben un tono y cómo repercute este aprendizaje en la neurona.

## MATERIAL Y METODOS

Se clasificaron los animales en tres grupos experimentales. Grupo control (CT); animales que no recibieron ni tonos ni soplos de aire.

Grupo control (UP); animales que no aprendieron a cerrar el parpado cuando escucharon el sonido (tono).

Grupo Experimental (PD); animales que aprendieron a cerrar el parpado cuando escucharon un sonido (tono).

La unidad experimental es la neurona. Las neuronas de cada grupo son fluorescentes e importante en el aprendizaje Pavloviano de cerrar el parpado. Cada neurona fue medida en 3 cortes y la medida final de cada neuronal correspondió al promedio de los 3 cortes.

La respuesta de las neuronas debidas al efecto del condicionamiento clásico se mide en función de las sinapsis. Las sinapsis segregan sustancias o neurotransmisores que son los encargados de excitar o inhibir la acción de la otra célula llamada célula post sináptica.

Se trata de determinar si las sinapsis excitatorias (PSD95) y las sinapsis inhibitorias (Gephy) cambian (aumentan o disminuyen) después del condicionamiento clásico.

El tamaño de cada neurona esta medida en  $\mu\text{m}$ . Para sacar el porcentaje de la superficie de la neurona ocupada por PSD95 y Gephy la circunferencia se vuelve 100% (Circum) debido a que todas las neuronas tienen distinto tamaño.

El análisis de los datos se realizó empleando un modelo lineal mixto considerando tres grupos experimentales (Grupo: CT, UP y PD), el área de la neurona ocupada por las sinapsis excitatorias (PSD95) e inhibitorias (Gephy) y el efecto aleatorio introducido por el animal (Subject).

El tamaño de la neurona (Circum) se consideró como covariable. Se conoce además, que la estimulación de la neurona por efecto del aprendizaje determina diferentes niveles de variabilidad que deben ser tenidos en cuenta al modelar la estructura de la varianza residual.

El análisis de los datos se efectuó empleando el procedimiento Proc Mixed del programa SAS versión 9.3

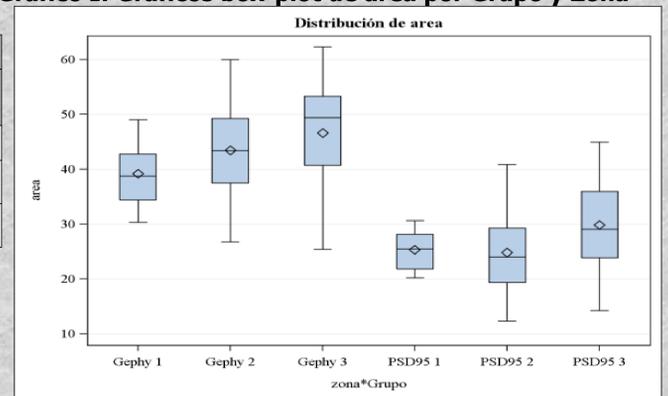
## RESULTADOS

Tabla I: Test de efectos fijos

Type 3 Tests of Fixed Effects				
Effect	Num DF	Den DF	F-Valor	Pr > F
Grupo	2	129	14.56	<.0001
zona	1	149	362.57	<.0001
zona*Grupo	2	129	2.74	0.0683

Efecto significativo de los factores Grupo y Zona e interacción en el límite de la significación

Gráfico I: Gráficos box-plot de área por Grupo y Zona



La especificación general del modelo para la observación individual del área ocupada por las sinapsis excitatorias e inhibitorias en cada neurona  $i$  dentro de cada animal  $j$  (Subject) se muestran a continuación.

$$\text{area}_{ij} = \beta_0 + \beta_1 \times \text{Grupo}1_j + \beta_2 \times \text{Grupo}2_j + \beta_3 \times \text{zona}1_{ij} + \beta_5 \text{Grupo}1_j \times \text{zona}1_{ij} + \beta_6 \text{Grupo}2_j \times \text{zona}1_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

En el modelo,  $\text{area}_{ij}$  es la variable dependiente, y  $\text{Grupo}1_j$  y  $\text{Grupo}2_j$  son las variables indicadoras para los niveles de tratamiento Control CT vs. PD y Control UP vs. PD respectivamente.  $\text{Zona}1_{ij}$  es la variable indicadora del tipo de sinapsis.

$\beta_0$  es la ordenada al origen que representa los valores de  $\text{area}_{ij}$  para los niveles de referencia de Grupo y zona (PSD95 vs. Grupo control CT) cuando el tamaño de la neurona (Circum) es igual a cero.

$\beta_1$  y  $\beta_2$  corresponden a los parámetros asociados a los efectos fijos de las variables dummy ( $\text{Grupo}1_j$  y  $\text{Grupo}2_j$ ) para los grupos experimentales CT y UP respecto al grupo PD.

El parámetro  $\beta_3$  representa el efecto de la  $\text{zona}1_{ij}$  (PSD95 vs. Gephy).  $\beta_5$  y  $\beta_6$  representan los efectos fijos asociados con la interacción Grupo x zona.

$u_j$  representa el efecto aleatorio asociado con cada animal  $j$ . Este efecto tiene distribución normal dada por;  $u_j \sim N(0, \sigma_{\text{Subject}}^2)$  donde  $\sigma_{\text{Subject}}^2$  representa la componente de varianza de cada animal.

Tabla II: Estimación de los parámetros de los efectos fijos

Efectos fijos						
	Efectos	Estimate	Standard Error	DF	Valor t	Pr >  t
$\beta_0$	Intercept	29.8742	1.1324	116	26.38	<.0001
$\beta_1$	Grupo CT vs. PD	-4.5118	1.6257	97	-2.78	0.0066
$\beta_2$	Grupo UP vs. PD	-5.0692	1.4126	227	-3.59	0.0004
$\beta_3$	Zona Gephy vs. PSD95	16.7857	1.6015	116	10.48	<.0001
$\beta_4$	zona*Grupo Gephy Grupo CT vs. PD	-2.8940	2.2991	97	-1.26	0.2111
$\beta_5$	zona*Grupo Gephy Grupo UP vs. PD	1.8667	1.9977	227	0.93	0.3511

Existe diferencias estadísticamente significativas entre el Grupo PD y ambos controles CT ( $p < 0.0066$ ) y UP ( $p < 0.0004$ ).

Esta diferencia indica que el área de la neurona ocupada por las sinapsis es mayor en el grupo con aprendizaje (PD) respecto a los grupos sin estímulo y sin aprendizaje. Además, se determina que el área ocupada por sinapsis inhibitorias (Gephy) es significativamente superior a la ocupada por sinapsis excitatorias (PSD95) ( $p < 0.0001$ ).

Tabla III: Estimación de los parámetros de covarianza

Estimaciones del parámetro de covarianza					
Cov Parm	Group	Estimate	Standard Error	Z Value	Pr > Z
Residual	Grupo 1	23.1288	5.7822	4.00	<.0001
Residual	Grupo 2	54.1835	6.2566	8.66	<.0001
Residual	Grupo 3	75.6611	9.9348	7.62	<.0001

Los grupos experimentales no sólo difieren en promedio sino también en su variabilidad.

Tabla IV: Promedios ajustados por Grupo

Least Squares Means						
Effect	Grupo	Estimate	Standard Error	DF	Valor t	Pr >  t
Grupo	1	32.3083	0.8248	32	39.17	<.0001
Grupo	2	34.1312	0.5971	150	57.17	<.0001
Grupo	3	38.2670	0.8007	116	47.79	<.0001

Tabla V: Test a posteriori para la comparación de medias de Grupo

Differences of Least Squares Means									
Efecto	Grupo	Grupo	Estimate	Standard Error	DF	Valor t	Pr >  t	Adj.	Adj P
Grupo	CT	UP	-1.8229	1.0182	70.2	-1.79	0.0777	T-K	0.1769
Grupo	CT	PD	-5.9588	1.1495	97	-5.18	<.0001	T-K	<.0001
Grupo	UP	PD	-4.1358	0.9988	227	-4.14	<.0001	T-K	0.0002

## CONCLUSIONES

Se probó un Modelo Lineal Mixto sujeto dependiente observando que la influencia del animal no es relevante en el modelo ( $ICC = 0.0049$ ). Las conclusiones más importantes indican que para la variable Zona, el área promedio ocupada por las sinapsis inhibitorias es significativamente superior a la ocupada por las excitatorias ( $p < 0.0001$ ). Con respecto al área promedio ocupada por las sinapsis entre grupos experimentales, se observó que los grupos con menor estimulación de aprendizaje (CT y UP) no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ellos pero si con respecto al grupo con aprendizaje (PD). Particularmente el grupo control sin ningún tipo de aprendizaje (CT) mostró un área promedio significativamente menor, del orden del 6% respecto al grupo con aprendizaje (PD) ( $p < 0.0001$ ). El grupo de animales que no aprendieron (UP), también mostró un área significativamente menor a la del grupo con aprendizaje ( $p < 0.0002$ ). No menos importante es determinar que el efecto del aprendizaje tiene una respuesta no homogénea sobre las neuronas. Los tres grupos experimentales tienen diferente variabilidad. La interacción Zona x Grupo mostró una significación ajustada ( $p < 0.068$ ). Los promedios de áreas para cada combinación (gráfico box-plot de interacción) se puede concluir que hay un leve desplazamiento de las pendientes a través de los grupos experimentales. Particularmente las sinapsis inhibitorias (Gephy) cambian con mayor magnitud entre los grupos experimentales que las sinapsis excitatorias (PSD95).