

**EFFECTOS DE LA INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS *DE NOVO* SOBRE LA EXTINCIÓN DE  
UN APRENDIZAJE ESPACIAL EN EL LABERINTO DE BARNES**

**DERLY VIVIANA VARGAS LÓPEZ**

**Trabajo de grado presentado para optar al título de Magíster en Psicología**

**DIRIGIDO POR:**

**MARISOL LAMPREA RODRÍGUEZ, MSc, PhD.**

**Facultad de Ciencias Humanas  
Departamento de Psicología  
Universidad Nacional de Colombia  
Bogotá 2009**

## RESUMEN

El proyecto tuvo como objetivo general determinar la participación de la síntesis de proteínas *de novo* en el proceso de consolidación de la memoria de la extinción de un aprendizaje espacial en el laberinto de Barnes. Para esto se propuso un diseño factorial de 2x2 con las variables independientes: a) Tratamiento Farmacológico (Anisomicina/Vehículo) y b) Entrenamiento (Extinción/SinExtinción). Se emplearon como sujetos experimentales 27 ratas Wistar macho distribuidas aleatoriamente en los cuatro grupos y se evaluó la recuperación de la memoria a largo plazo después del proceso de extinción. Las variables dependientes evaluadas durante la fase de la recuperación de la memoria fueron: frecuencia de exploraciones del agujero meta, porcentaje de exploraciones del agujero meta, frecuencia total de exploración de agujeros, latencia al agujero inicialmente meta, distancia recorrida y velocidad media de recorrido. Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre grupos para estas variables durante la fase de prueba, de lo cual se puede concluir que la síntesis de proteínas *de novo* es un proceso celular necesario para la formación de memoria de un nuevo aprendizaje, como lo es la extinción, y que dicho proceso puede ser alterado farmacológicamente aún después de 24 horas de iniciado. Estos hallazgos son consistentes con diversos estudios que identifican a la síntesis de proteínas como un proceso necesario para la formación de la memoria posterior a la extinción de conductas condicionadas clásicamente y también en el aprendizaje espacial utilizando otros paradigmas que involucran una mayor exigencia emocional al individuo. Así mismo, son consistentes con estudios que demuestran que la síntesis de proteínas *de novo* es un proceso que se da no sólo en las primeras horas después del aprendizaje, sino que ocurre en periodos que pueden llegar a abarcar días o semanas.

Palabras clave: Aprendizaje Espacial, Síntesis de Proteínas, Laberinto de Barnes, Extinción, Anisomicina, Consolidación de la Memoria.

## ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the role of protein synthesis *de novo* in the formation of spatial reference memory as well as in its extinction. 27 male Wistar rats received eight reinforced trials (acquisition) in the Barnes maze and were tested in one reinforced trial 24 hours after training (retrieval). The next day, animals were randomly assigned to one of four groups: a) Anisomycin/Extinction, b) Vehicle/Extinction, c) Anisomycin/No-Extinction or d) Vehicle/No-Extinction. Animals received an intra-cerebro-ventricular microinjection of Anisomycin or Vehicle, and half of them were trained in the maze with eight non-reinforced trials of four minutes (Extinction), whereas, the rest of the animals stayed in their homecage (No-Extinction). The next day animals were tested in one 4-minute non-reinforced trial. Results showed that animals treated with Anisomycin, and No-Extinction, performed worse than those treated with the Vehicle. On the other hand, animals treated with Anisomycin and Extinction showed the conditioned preference that was extinguished the day before, whereas those treated with Vehicle showed no preference. These results indicate that protein synthesis is a cellular process necessary for the consolidation of memory and extinction, and involves more than one wave of synthesis. This data also supports the idea that extinction shares some basic cellular processes with acquisition, and it is an active process, different from forgetting.

Key words: Spatial Learning, Protein Synthesis, Barnes Maze, Extinction, Anisomycin, Memory Consolidation.

## **AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría dedicar esta tesis a mi familia, quien me apoyó y animó a lo largo del desarrollo de la Maestría.

Quisiera expresar mi gratitud a mi supervisora, Prof. Marisol Lamprea, por su notable instrucción, aliento, consejo y paciencia a lo largo de la Maestría, así como por sus comentarios y correcciones sobre esta tesis.

Mi agradecimiento a los profesores Alejandro Múnera, Julieta Troncoso y Zulma Dueñas por su orientación y consejo a lo largo de esta investigación, así como a Silvana Claro y Sandra Ortega por su asistencia en el desarrollo de los experimentos.

## Tabla de Contenidos

Resumen	ii
Abstract	iii
Agradecimientos	iv
Tabla de Contenidos	v
Lista de Tablas y Figuras	vii
Introducción	1
Aprendizaje y Memoria	1
Tipos de Aprendizaje	1
Tipos de Memoria	2
Fases de la Memoria	3
Aprendizaje Espacial	4
El Estudio del Aprendizaje en Laberintos	5
Mapas Cognitivos	6
El Hipocampo Como Mapa Cognitivo	7
Discriminación Espacial	10
Extinción	11
Extinción como Proceso Activo	12
Recuperación Espontánea	12
Rápida Readquisición	13
Deshinibición Externa	13
Reestablecimiento y Renovación	13
Teorías de la Extinción	13
Pérdida Asociativa	14
Nuevo Aprendizaje	14
Decremento en la Generalización	15
Pérdida No-Asociativa	15
Extinción del Aprendizaje Espacial	16

Mecanismos Neuroquímicos del Aprendizaje y la Memoria	17
Memoria y Síntesis de Proteínas	20
Consolidación de la Memoria Espacial	23
Reconsolidación de la Memoria Espacial	24
Consolidación de la Extinción en Tareas de Aprendizaje Espacial	25
Justificación	27
Objetivos	29
Objetivo General	29
Objetivos Específicos	29
Hipótesis	29
Método	30
Sujetos Experimentales	30
Materiales y Equipos	30
Cirugía Estereotáxica	30
Tratamiento Farmacológico	30
Aparatos	31
Procedimiento	31
Consideraciones Éticas	34
Tipo de Investigación y Diseño	35
Análisis Estadístico	36
Resultados	38
Discusión y Conclusiones	54
Referencias	72
Anexos	82
Curriculum Vitae	91

## Lista de Figuras y Tablas

Figura 1. Mecanismos moleculares de la consolidación y reconsolidación de la memoria	19
Figura 2. Diseño experimental y procedimiento	35
Figura 3. Corte de cerebro representativo de lugar de implantación de la cánula	38
Figura 4. Indicadores de ejecución durante la Adquisición y la Recuperación	40
Tabla 1. Comparación entre la recuperación y la prueba post-tratamiento.	42
Figura 5. Indicadores de ejecución durante la extinción y la prueba post-tratamiento	44
Figura 6. Indicadores globales de exploración durante la extinción y la prueba post-tratamiento.	47
Figura 7. Indicadores de Exploración por Agujero durante la Extinción	49
Figura 8. Exploración de los agujeros para los cuatro grupos experimentales durante la prueba post-tratamiento	51
Figura 9. Distribución de la frecuencia de exploración de los agujeros durante la prueba post-tratamiento (PTT) para cada grupo experimental	52

## INTRODUCCIÓN

### Aprendizaje y Memoria

El aprendizaje es un proceso continuo que se define como el cambio en el comportamiento que se da como consecuencia de la experiencia y que le permite a los organismos la adaptación al medio ambiente (Aguado, 2001). Se ha planteado que el aprendizaje está relacionado de manera interdependiente con el proceso de la memoria en tanto que para que dicho aprendizaje sea elicitado con posterioridad debe haber sido almacenado previamente (Rosenzweig & Leiman, 1992). Por esta razón se considera que el aprendizaje y la memoria son dos momentos en el procesamiento de la información proporcionada por los sentidos (Aguado, 2001).

#### Tipos de Aprendizaje

El aprendizaje se ha dividido frecuentemente en dos tipos: No asociativo y asociativo. Sin embargo, algunos fenómenos conductuales son difíciles de incluir en estas categorías, por lo que se han categorizado dentro de los fenómenos de cognición animal (Thinus-Blanc, 1996).

El aprendizaje no asociativo se define como un cambio conductual que se presenta como consecuencia de la exposición repetida a un estímulo que no está relacionado con otro, y que genera cambios en la respuesta a dicho estímulo; dentro de los fenómenos no asociativos encontramos la sensibilización y la habituación (Kandel, Jessell & Schwartz, 1997; Aguado 2001).

Por su parte, el aprendizaje asociativo se define como un cambio conductual relativamente permanente que es producto de la exposición repetida a dos estímulos relacionados en términos de su contigüidad temporal, sus consecuencias y la validez predictiva entre el estímulo y la consecuencia. Las formas de aprendizaje asociativo más estudiadas corresponden al condicionamiento clásico, en el cual predomina la asociación entre estímulos, y el condicionamiento operante, donde predomina la asociación entre la respuesta y sus consecuencias (Domjan, 1999).

Otros fenómenos de aprendizaje más complejos se han incluido en una categoría separada denominada Cognición Animal, pues suponen un nivel distinto de organización de la conducta, y por lo general se acude a variables intervinientes o constructos hipotéticos, tal como ocurre en el caso del aprendizaje espacial (Thinus-Blanc, 1996).

## Tipos de Memoria

De manera semejante que ocurre con las definiciones del aprendizaje, la memoria se ha subdividido en dos tipos relacionados con su duración y que corresponden a la memoria de trabajo o de corto plazo, y la memoria de largo plazo.

El término memoria de trabajo se usa para describir la capacidad de los individuos para mantener activa determinada información para su procesamiento, así como para denominar el mecanismo que permite realizar una tarea particular o alcanzar una meta (Baddeley, 1995; Dhond, Buckner, Dale, Marinkovic & Halgren, 2001). Dhond y colaboradores (2001) propusieron que la memoria de trabajo se concibe como un sistema de múltiples componentes que corresponden a los sistemas esclavos de lazo fonológico y agenda viso-espacial que almacenan materiales específicos y mantienen la información verbal y viso-espacial respectivamente, y a la central ejecutiva común que coordina la ejecución de tareas como el monitoreo de secuencias, ordenamiento de estímulos, generación de información, manejo de tareas simultáneas, y planeación.

Por su parte, la memoria de largo plazo permite el almacenamiento, condensación y organización de la información con el fin de asistir en la planificación o ejecución de conductas que se realizarán en un futuro cercano o lejano (Salomon, 2002). Baddeley (1995) divide la memoria a largo plazo en dos sistemas principales que corresponden a la memoria declarativa o semántica, y la memoria no-declarativa o de procedimiento.

La memoria declarativa se caracteriza por ser explícita, es decir, se puede acceder a ella de manera activa, deliberada y consciente a través de pruebas de recobro libre, de recobro con clave y reconocimiento, y está constituida por los subsistemas de memoria semántica y episódica. Mientras que la memoria semántica almacena las representaciones y significados de las palabras, los conceptos y los hechos, así como de sus reglas de manipulación, mientras que la memoria episódica se encarga del almacenamiento de eventos recientes o remotos relacionados con la experiencia del individuo en contextos espacio-temporales específicos (Baddeley, 1995). La presencia de este último tipo de memoria ha sido cuestionada en especies diferentes a la humana. Sin embargo, trabajos recientes (Kart-Teke, De Souza Silva, Huston & Derehan, 2006) han demostrado que las ratas poseen la capacidad de establecer una memoria integrada para los

aspectos “qué”, “dónde” y “cuándo”, criterios fundamentales en la definición de la memoria episódica según los planteamientos clásicos de Tulving (2002), y se ha relacionado con aprendizajes de tipo relacional como el aprendizaje espacial o el reconocimiento de objetos (Eichenbaum & Fortin, 2005).

Por su parte la memoria de procedimiento o no-declarativa se refiere a la acumulación de experiencias y acciones que no pueden fragmentarse en episodios ni ser evocados explícitamente (Baddeley, 1995). La memoria de procedimiento es una memoria inferida a partir de las modificaciones del comportamiento que resultan como consecuencia de una o varias experiencias. Algunos fenómenos relacionados con este sistema de memoria corresponden a la facilitación e inhibición en el nivel de recobro de la información, la adquisición de hábitos y habilidades, el condicionamiento clásico simple, y el aprendizaje no-asociativo (habituaación y sensibilización) (Baddeley, 1995).

#### Fases de la Memoria

La memoria entendida como proceso presenta distintas fases (Tarpy, 2000) entre las que se identifican la adquisición, la consolidación, la recuperación, la reconsolidación y el olvido. Estudios a nivel celular y molecular sugieren que estas fases pueden compartir mecanismos similares, y que su activación en el tiempo podría ser de forma secuencial o en paralelo (Lattal & Abel, 2001).

La adquisición de la memoria o fase de aprendizaje ocurre cuando el animal aprende la relación entre diversos estímulos o adquiere las habilidades o destrezas necesarias para responder adecuadamente a diversos estímulos (Good, 2002). Se ha estudiado con múltiples modelos experimentales de condicionamiento clásico y operante, así como en tareas de aprendizaje espacial.

Una vez adquirida la información, ésta puede ser recuperada, proceso que implica la activación de la información previamente almacenada y la exhibición de las respuestas conductuales aprendidas en el contexto de su entrenamiento o en contextos semejantes (Camelo-Roa, Yepes & Torres, 2005). Si bien la recuperación es un proceso que puede ser fácilmente descrito desde el punto de vista conceptual, su estudio en el laboratorio no ha sido

fácil ya que funcionalmente es un proceso interdependiente de la consolidación (Summers, Crowe & Kim, 2003).

La consolidación se define como el proceso por el cual la memoria recién adquirida se hace estable y duradera en un intervalo temporal específico (Barrientos, O'Reilly & Rudy, 2002). Según Pedreira y Maldonado (2003) durante este período la memoria es susceptible de ser modificada por diversas intervenciones, de manera que el recobro se ve deteriorado. Múltiples estudios han encontrado que la formación de la memoria después de la adquisición se puede modular mediante la inyección post-entrenamiento de diversos agentes farmacológicos de acción central y periférica, como los glucocorticoides (Sandi, 1998), adrenalina y noradrenalina (McGaugh, Cahill & Roozendaal, 1996) e inhibidores de la síntesis de proteínas (Lattal, Honarvar & Abel, 2004), entre otras.

Una vez que una memoria es recuperada, es reactivada y puede ser modificada, es entonces cuando se presenta el proceso de reconsolidación. La reconsolidación es un proceso neuronal fundamental, en el cual el recobro de una memoria previamente consolidada retorna a un estado lábil donde nuevamente debe ser estabilizada (Morris, Inglis, Ainge, Olverman, Tulloc, Dudai & Nelly, 2006). La evidencia muestra que cuando un animal es reexpuesto a una tarea que había aprendido previamente, se abre de nuevo una ventana temporal en la cual la memoria es otra vez susceptible al olvido o interferencia mientras es almacenada a largo plazo (Pedreira & Maldonado, 2003).

Finalmente, el olvido es el proceso por el cual se pierde la capacidad de activar información previamente aprendida y que puede ser el resultado del paso del tiempo (Skinner, 1953) o factores como la interferencia proactiva y retroactiva (Baddeley, 1995). Aunque no es muy claro cómo sucede este fenómeno, algunas explicaciones apuntan a la pérdida física de conexiones neuronales, mientras que otras, apoyadas en estudios neuropsicológicos, sugieren que el fenómeno estaría relacionado con algún proceso inhibitorio que impide el recuerdo (Anderson, Bjork & Bjork, 1994).

### **Aprendizaje Espacial**

La supervivencia de muchas especies, tales como roedores y aves depende de su habilidad para encontrar los lugares donde hay comida disponible así como de su capacidad para

regresar (Thinus-Blanc, 1996). Dada la importancia de estas habilidades, la comprensión de la forma como los animales son capaces de orientarse respecto del contexto en el que se encuentran y adaptarse a él a partir de la determinación de su posición relativa ha sido un tópico de relevancia que se ha estudiado tanto mediante observaciones de campo como a través de experimentos en el laboratorio (Good, 2002).

Adicionalmente, este tipo de aprendizaje se ha relacionado con procesos de memoria episódica en tanto implica la representación detallada espacio-perceptual de los ambientes que se han experimentado durante la vida incluyendo información de rutas que permiten el desplazamiento en el espacio dentro de un ambiente determinado, así como de la localización de claves relevantes dentro del ambiente, es decir la topografía del mismo (Rosenbaum, 2004).

#### Estudio del Aprendizaje en Laberintos

La investigación acerca del aprendizaje espacial nació en el marco del estudio del comportamiento de roedores en laberintos, donde a los animales se les permitía explorar un instrumento y se ofrecía refuerzo una vez que el animal hallara la salida o alcanzara un lugar meta. El primer laberinto espacial utilizado con roedores fue el de Small (1901), construido como una réplica a escala del laberinto de Hampton Court, permitía cuantificar el número de errores y el tiempo utilizado por el animal para hacer el recorrido de manera satisfactoria.

En 1908, Carr y Watson, retomando el trabajo de Small, comenzaron a controlar las variables que posiblemente estaban relacionadas con el aprendizaje del animal en el laberinto, tales como indicios sensoriales. Con el fin de explicar *qué* aprendían los animales en el laberinto se fueron introduciendo modificaciones y desarrollando nuevos instrumentos, lo que permitió la formulación de hipótesis tales como que los animales aprendían a moverse en el espacio a través del uso de claves cinestésicas, y que cuando ésta estrategia no era efectiva, el animal vagaba por el laberinto hasta encontrar una clave respecto de la cual ubicarse. Sin embargo, estas no eran las únicas explicaciones posibles, por lo que Shepard (1933) y otros investigadores interpretaron el comportamiento de las ratas como evidencia de “razonamiento” pues estos aprendían a lo largo de los ensayos a utilizar el camino más corto, evitando tomar rutas que no llevaban a la salida. Así, durante este periodo los datos acerca del desempeño de

animales en laberintos fueron interpretados y explicados en términos de procesos tales como “inteligencia animal”, “*insight*” o “razonamiento” (Thinus-Blanc, 1996).

En contraste con estas explicaciones, Hull y Tolman dos de los investigadores más representativos del movimiento neoconductista de la época, acuñaron diferentes explicaciones acerca lo que el animal aprendía en el laberinto. De acuerdo con Hull (1943), quien se basaba en los estudios de transferencia realizados por Carr y Watson en 1908, el animal aprendía a ejecutar una cierta respuesta motora en vez de otra, ya que la primera era reforzada (seguida de comida) mientras que la otra no, es decir se presentaba un aprendizaje cinestésico o de secuencias motoras. Por su parte, Tolman (1948) entendía el aprendizaje como la adquisición de nuevo conocimiento acerca del mundo, el cual era representado en forma de mapas cognitivos, los cuales en último término constituían la causa y explicación de las nuevas respuestas observadas en los animales. En este sentido, Tolman (1948) basado en experimentos previos desarrollados por él y algunos de sus colaboradores (Tolman, Ritchie & Kalish, 1946a; 1946b) suponía que el animal tenía una serie de expectativas frente a los lugares donde podía encontrar comida, y llegaba a este navegando el espacio con base en mapas cognitivos que elaboraba a partir de las relaciones espaciales existentes entre las claves externas al laberinto y el lugar de comida, dándose un condicionamiento de lugar, que sería de naturaleza distinta al condicionamiento de respuestas.

### Mapas Cognitivos

Si bien el aprendizaje espacial parecía ser más complejo que el aprendizaje de una respuesta operante o clásica ante estímulos individuales, Tolman (1948) se distanció del análisis de la conducta al plantear una distinción entre aprendizaje y ejecución basado en sus experimentos sobre “aprendizaje latente”, y al plantear que la causa del comportamiento eran los mapas cognitivos que el animal formaba al adquirir conocimiento de su entorno. Así mismo su visión suponía que el ambiente en el que se daban las respuestas y aún la efectividad misma serían factores secundarios a la explicación pues asumía que el aprendizaje no consiste en conexiones estímulo-respuesta sino en la construcción, en el sistema nervioso, de organizaciones que funcionan como mapas cognitivos.

Ahora, si bien Tolman (1948) no describe la naturaleza de los mapas cognitivos, pues no distingue si éstos son en sí mismos el funcionamiento del sistema nervioso o una propiedad emergente de dicha actividad, les atribuye características que le permitirían al animal autoiniciar su comportamiento, actuar de manera flexible frente al medio y aún tomar decisiones más autónomas basadas en hipótesis. Debido a estas limitaciones en la explicación, el concepto de mapa cognitivo fue interpretado como una clase de “visión de ojo de pájaro” del ambiente, que les permite a los animales moverse eficientemente entre lugares indicados en un mapa (Chamizo, 2002). La carencia de argumentos sólidos para la teoría y la aparición de interpretaciones alternativas como la expuesta por Restle en su revisión sobre la conducta de los animales en laberintos en 1957, donde concluía que era necesario hablar de mapas cognitivos o de diferencias cualitativas entre aprendizaje de lugar y aprendizaje de respuesta, hizo que el concepto de mapa cognitivo quedara en desuso.

Restle (1957) planteó que la discusión en torno a si los animales aprendían respuestas o aprendían acerca de los lugares donde las emitían era una cuestión mal formulada, pues según él la respuesta a esta aparente contradicción implicaba reconocer que el aprendizaje de respuestas en un laberinto dependía de una multiplicidad de claves, y que los animales aprendían diferentes respuestas ante las claves relevantes en la situación experimental tal como lo harían en una caja de discriminación, donde las claves usadas por las ratas pueden ser patrones o arreglos de estímulos más que un estímulo físico específico. Desde esta perspectiva, una clave con una relación constante o predecible con un arreglo se condicionaría a una respuesta correcta, por lo que las claves funcionarían como estímulos discriminativos y las respuestas serían discriminatorias.

Si bien Restle (1957) aportó una interpretación del fenómeno del aprendizaje espacial desde el análisis de la conducta, la investigación y discusión sobre este tópico fue dejada de lado por décadas, y solo hasta finales de los 70's el término fue retomado, esta vez desde una perspectiva completamente diferente.

#### El Hipocampo como Mapa Cognitivo

En 1978, O'Keefe y Nadel resucitaron la idea de Tolman de mapa cognitivo basados en dos hallazgos que fueron los pilares de la nueva teoría. El primero es que a través de estudios

electrofisiológicos se estableció que ciertas neuronas del hipocampo de la rata aumentan su frecuencia de disparo cuando el animal entra en contacto con lugares específicos de un ambiente conocido, por lo que a este tipo de células se les denominó “células de lugar” (*place cells*). El segundo hallazgo fue que las lesiones en el hipocampo de la rata tenían efectos selectivos sobre el aprendizaje espacial, por lo que los animales lesionados no mostraban dificultades para dirigirse hacia un objetivo que podían ver, como la salida del laberinto, pero se desorientaban completamente cuando el objetivo estaba escondido y sólo señalado por su ubicación relativa a otras claves ambientales (Morris, 1984).

En su libro *The hippocampus as a cognitive map*, O'Keefe y Nadel (1978) proponían que el aprendizaje de una trayectoria correcta hacia un objetivo podía darse de dos formas diferentes, las cuales denominaron aprendizaje cartográfico o espacial, y aprendizaje táxico o guiado. Según su teoría estas dos formas de aprendizaje serían fundamentalmente diferentes e independientes, donde solo el aprendizaje guiado podría ser interpretado como una forma de respuesta condicionada, mientras que el aprendizaje cartográfico se basaría en la formación y reajuste completo de la representación del ambiente en respuesta a la novedad (Chamizo, 2002). Esta nueva forma de definir y explicar el aprendizaje espacial retomaba la hipótesis del mapa cognitivo. Los autores nuevamente plantearon que una rata solucionando un problema en el laberinto formaría un mapa cognitivo del ambiente donde ésta se encuentra, así como de la localización específica del lugar-meta, adquiriendo un mapa de las relaciones espaciales entre claves dístales; además, postularon que este tipo de aprendizaje sería flexible (pues no se aprendía un patrón fijo de respuesta), ajustable en el tiempo, no asociativo, basado en un marco de referencia aloentrico y dependiente del hipocampo (Chamizo, 1990). Contrario al aprendizaje espacial, el aprendizaje táxico se basaría en estrategias denominadas de guía o de orientación, donde la estrategia de guía supondría la identificación y aproximación a las características físicas o químicas de las claves ubicadas cerca de la meta o dentro del laberinto, lo que correspondería a una respuesta condicionada clásicamente, mientras que la estrategia de orientación se basaría en la asociación entre estímulo y respuesta, tal como una respuesta operante (Chamizo, 2002).

Con el fin de comprobar estas hipótesis, Keeton en 1974 realizó estudios de campo con aves, cuyos resultados apoyan la idea del aprendizaje cartográfico y fueron la base para la formulación de la “hipótesis del mapa y la brújula”. En estos experimentos se observó que las aves eran capaces de volver volando a su nido tanto si eran dejadas en sitios conocidos como si no lo eran, por lo que estos animales utilizarían claves como el sol, las estrellas y los campos magnéticos para dirigir su ruta. En este mismo sentido, se realizaron experimentos con en el laberinto radial de ocho brazos, el cual se puede modificar para ser resuelto por medio de claves internas o externas al laberinto. En ambos casos, las estrategias no son excluyentes, sino que son utilizadas por las ratas dependiendo de las circunstancias ambientales. Por ejemplo, cuando el lugar está bien iluminado los animales aprenden basándose en hitos o claves dístales, mientras que cuando el lugar está poco iluminado aprenden basándose en hitos o claves cercanas, o incluso cuando el lugar se encuentra oscuro aprenden utilizando estrategias cinestésicas, posteriormente denominadas “Integración de la vía” (Olton, 1977).

A pesar de estas pruebas preliminares, el primer test controlado que permitía discriminar la estrategia espacial de las táxicas fue el desarrollado por Morris en 1984, y supuso apoyo inicial la teoría de O’Keefe y Nadel en el sentido en que la respuesta efectiva no era aprender a acercarse a un lugar condicionado apetitivamente, como tampoco un patrón motor, sino que el animal requería orientarse con relación a claves distales en el ambiente.

En su laberinto, Morris demostró que las ratas podían localizar un objeto que ocultó a través del uso de la información sobre su posición relativa con respecto a marcas dístales o externas al laberinto. En su trabajo Morris (1984) utilizó una piscina circular llena de agua opaca de la cual los animales podían escapar al subir a una plataforma oculta sumergida un centímetro por debajo del agua. Las ratas aprendían rápidamente a escapar del agua nadando directamente hacia la plataforma desde distintos lugares de la piscina, pues la plataforma de escape siempre mantenía una relación constante con las marcas en la habitación. Morris interpretó sus resultados como prueba de que los animales aprendían a localizar la posición de la plataforma guiándose por la posición que mantiene con respecto del contexto en el cual el experimento era llevado a cabo, siendo un tipo de aprendizaje espacial. Sin embargo, Morris (1984) también indicó que sus resultados no ofrecían información suficiente para explicar la forma como el

animal adquiriría “dicho mapa”, por lo cual sugirió que una forma de abordar esta cuestión sería ver si fenómenos característicos de condicionamiento clásico o instrumental, como el bloqueo o la inhibición latente, podían también ser observados en experimentos en los cuales las ratas aparentemente adquirirían un “mapa espacial”.

### Discriminación Espacial

La propuesta de Morris acerca de la evaluación de algunos fenómenos característicos del condicionamiento en el aprendizaje espacial dio lugar a investigaciones comportamentales que han mostrado cómo este tipo de aprendizaje parece compartir propiedades similares a la de otras formas de aprendizaje tradicionalmente enmarcadas dentro de la categoría de aprendizajes asociativos, observándose efectos de ensombrecimiento, inhibición latente, bloqueo, desbloqueo y extinción (Chamizo, 1990; Chamizo, 2002; Lattal, Radulovic & Lukowiak, 2006). Por supuesto, estos hallazgos son difíciles de reconciliar con la propuesta de O’Keefe y Nadel en el sentido en que el aprendizaje espacial es esencialmente definido por ellos como un tipo de aprendizaje no asociativo. Adicionalmente, la hipótesis del mapa cognitivo afronta otros problemas, ya que si bien es cierto que el hipocampo juega un rol importante en muchas tareas espaciales, también es cierto que el hipocampo juega un papel importante en otras tareas no espaciales (Gluck & Myers, 1997; Capaldi, Robinson & Fahrback, 1999). Además, esta propuesta está homologando la fisiología de una estructura con un proceso psicológico inferido del comportamiento, proceso que además no se ha definido con precisión, y del cual no se tiene evidencia distinta a la del comportamiento, por lo que como plantean Sherry y Healy (1998), la propuesta de O’Keefe y Nadel es más una metáfora que una teoría.

Ahora, si retomamos los aportes hechos por los investigadores que han abordado el problema del estudio del aprendizaje espacial desde el análisis del comportamiento, encontramos que ya desde Watson (1908) se da una búsqueda por identificar los factores ambientales con los que se relaciona la conducta del animal en laberintos, por lo que el aprendizaje espacial es concebido como un cambio en la conducta del animal que se relaciona con ciertas condiciones de estimulación; desafortunadamente la posterior interpretación de estos hallazgos implicó la inclusión de categorías del lenguaje cotidiano para explicar dicho cambio en la conducta, insertándose términos tales como inteligencia y razonamiento (Shepard,

1933), o mapas cognitivos (Tolman, 1948) o conceptos de la biología con relaciones inespecíficas respecto de conceptos psicológicos tales como mapas cognitivos en el hipocampo (O'Keefe & Nadel, 1978). Sin embargo, en las últimas dos décadas, inspirados en las disertaciones de Restle (1957), y las sugerencias de Morris (1981) de explorar paralelos entre el aprendizaje espacial y otras formas de aprendizaje asociativo, algunos investigadores han empezado a analizar locaciones espaciales de manera similar a la forma como usualmente se analizan otras propiedades o dimensiones de estímulos (Chamizo, 2002), encontrando que el control ejercido por la ubicación de los estímulos parece ser similar al ejercido por otras propiedades del estímulo en tanto se observan efectos relacionados con la proximidad espacial similares a los ampliamente descritos sobre proximidad temporal entre estímulos, así como gradientes de generalización. De hecho, se ha encontrado que las claves espaciales que sirven como marcas en el espacio compiten de acuerdo a una regla de corrección-error similar a la del modelo de Rescorla-Wagner (Chamizo, 2002) y que los fenómenos de bloqueo, desbloqueo y ensombrecimiento en la dimensión espacial implican la organización de un campo de estimulación que no se reduce a elementos individuales.

Desde esta perspectiva el aprendizaje espacial es una forma de aprendizaje que puede ser analizada en términos de la organización funcional entre la conducta del animal y el medio en el cual se encuentra inmerso, por lo que las categorías del condicionamiento podrían ser útiles para su explicación. Desde esta perspectiva el aprendizaje espacial es un fenómeno con características semejantes al aprendizaje discriminativo, ya que tal como ocurre en los modelos de evitación o escape, el animal se orienta respecto de las claves en el contexto para emitir una respuesta funcional, que en este caso se dan ante una configuración de estímulos más que ante estímulos discretos, y donde la respuesta efectiva termina con la estimulación aversiva por lo que a lo largo de los ensayos es más probable que se presente la respuesta con menor latencia y sea susceptible de extinción en ausencia de refuerzo.

### **Extinción**

Ivan Pavlov en 1927 fue el primer investigador en describir el fenómeno de la extinción al observar que la presentación repetida de un estímulo condicionado (EC) en ausencia de un estímulo incondicionado (EI) daba lugar al debilitamiento del reflejo condicionado (RC), hasta el

punto que ésta llegaba a desaparecer. El término extinción fue usado posteriormente para describir la reducción de la respuesta operante cuando el reforzamiento era suspendido (Skinner, 1938). En términos generales la extinción elimina dos aspectos presentes en el condicionamiento: a) el EI o el reforzador ya no se presentados y b) la relación de contingencia termina. Como resultado, la respuesta condicionada disminuye y a la vez se afecta el repertorio conductual del organismo, produciéndose un aumento en la variabilidad de la respuesta cuando la variación es necesaria para el reforzamiento, pero no altera de otro modo la estructura de la conducta (Neuringer, Kornell & Olufs, 2001) e incrementa la probabilidad de que el organismo presente conductas agresivas (Tomie, Carelli & Wagner, 1993) pues la extinción involucra aspectos emocionales, los cuales se han relacionado con la frustración que le provoca al animal la ausencia de reforzamiento luego de que ha emitido la respuesta condicionada (Amsel, 1992).

#### Extinción como Proceso Activo

Debido a que el cambio conductual es opuesto al observado durante el aprendizaje inicial, se ha planteado que la extinción es lo contrario de la adquisición. Sin embargo, múltiples investigaciones han demostrado que aún después de la completa eliminación de la respuesta sobrevive un remanente sustancial del aprendizaje original, el cual puede ser recobrado a través de múltiples procedimientos (Domjan, 1999).

Brevemente, los fenómenos de recuperación espontánea, desinhibición externa, rápida readquisición, restablecimiento y renovación entre otros, demuestran que bajo ciertas condiciones, especialmente cuando la respuesta de extinción no ha sido sobreentrenada, la respuesta condicionada puede reaparecer rápidamente después de la extinción (Bouton, 1994; Falls, 1998; Konorski, 1967; Pavlov, 1927), lo que sugiere que al menos una porción de la fuerza asociativa original del EC es protegida durante la extinción. Además, existe evidencia según la cual información específica acerca de la naturaleza tanto del EC como del EI, así como acerca del intervalo entre estímulos (IEE) también sobreviven a la extinción (Denniston & Miller, 2003; Kehoe, Horne & Macrae, 1995).

#### Recuperación Espontánea

La recuperación espontánea es un fenómeno en el cual una RC extinta se recupera si se deja pasar el tiempo antes de que el EC sea reintroducido (Bouton, 1994). Este fenómeno se ha

observado en muchas preparaciones y especies diferentes (Rescorla, 1997; Rescorla, 2001; Rescorla, 2004) como por ejemplo en la salivación condicionada clásicamente en perros (Pavlov, 1927), en condicionamiento instrumental en ratas (Skinner, 1938) en aversión condicionada en ratas (Rosas & Bouton, 1996), en condicionamiento de múltiples respuestas en humanos (Brown, 1976) y en aprendizaje espacial en el laberinto de Morris (Lattal, Mullen & Abel, 2003).

### Rápida Readquisición

Aún cuando la recuperación espontánea puede ser erradicada por repetidas sesiones de extinción, la respuesta condicionada puede ser readquirida más rápidamente si el EC y el EI vuelven a ser apareados (Pavlov, 1927), y depende de múltiples factores asociados al proceso de extinción (Bouton, 2002). Los estudios que utilizan comparaciones intrasujetos revelan una readquisición más rápida de la RC en distintas especies y respuestas como por ejemplo la respuesta de parpadeo en conejos (Napier, McCrae & Kehoe, 1992).

### Deshinibición Externa

Pavlov (1927) fue el primero en observar el fenómeno de deshinibición externa que consiste en que una respuesta extinta a veces puede ser recobrada cuando se introduce un estímulo distractor justo antes o de forma simultánea con la prueba ante el EC, sin embargo el efecto es sólo temporal. Este fenómeno también se ha observado en condicionamiento operante (Hemmes & Rubinsky, 1982).

### Reestablecimiento y Renovación

Estos fenómenos comparten algunas similitudes con la deshinibición externa, pero en estos casos el contexto es usado como estímulo deshinibidor. Cuando se presenta un EC extinto en un contexto que ha sido recientemente apareado con el EI se puede lograr el restablecimiento de la respuesta al EC extinto (Rescorla & Heth, 1975). Por otro lado, el remover al sujeto del contexto en el cual la extinción ocurrió y ubicarlo en un nuevo contexto puede lograr la renovación de la respuesta al EC (Bouton & Bolles, 1979).

### Teorías de la Extinción

En términos generales, la extinción se caracteriza por el hecho de que ocurre cuando se omite el refuerzo en presencia del estímulo y la respuesta condicionada (Falls, 1998), y porque el procedimiento no elimina el aprendizaje previo, aunque su recuperación posterior no es

completa (Bouton, 1994), lo que ha permitido sugerir que las asociaciones originales no son eliminadas, y que por el contrario, durante la extinción, nuevas asociaciones se forman, estando disponibles ambos tipos de asociaciones al terminar la extinción (Navarro, 1993). En este sentido diversas teorías buscan identificar cómo las asociaciones inducidas durante la adquisición interactuarían con aquellas inducidas durante la extinción, en términos de si las primeras son reducidas o inhibidas por asociaciones competitivas adquiridas como consecuencia de la ausencia de refuerzo (Falls, 1998).

La pregunta es entonces: ¿Qué se retiene durante la extinción, y que se gana o pierde como resultado de la presentación del EC sin el EI?

A continuación se presentan de manera resumida los distintos mecanismos para dar cuenta de la pérdida de la respuesta durante la extinción que según propone Weidemann (2005) corresponden a una posible pérdida asociativa, un nuevo aprendizaje, un decremento en la generalización o una pérdida de tipo no-asociativo.

#### Pérdida Asociativa

Este mecanismo atribuye la pérdida de respuesta a un decremento en la fuerza de asociación entre el EC y el EI, por lo que se asume que la extinción implica la reversión de la adquisición. Según esta hipótesis la presentación de los EC's condicionados en ausencia de los incondicionados da lugar a un debilitamiento de la fuerza asociativa excitatoria entre los estímulos. El decremento en la fuerza excitatoria produce un decremento en la capacidad del EC para activar la representación del EI, y por tanto un decremento en la capacidad para generar la RC. Dentro de esta clase de teorías se encuentran las propuestas por Rescorla-Wagner, Mackintosh y Wagner. Todas estas teorías proponen diversos algoritmos que gobiernan la modificación de la fuerza asociativa excitatoria a lo largo de los ensayos y en general asumen que se presenta un "des-aprendizaje" a lo largo de la extinción. El problema principal que enfrentan estas teorías recae en cómo explicar los fenómenos de recuperación post-extinción.

#### Nuevo Aprendizaje

Este mecanismo atribuye la pérdida de respuesta a la adquisición de asociaciones competitivas con la asociación original entre EC y EI, la cual permanece intacta. En términos generales se asume que durante la ausencia de reforzamiento en presencia de los EC's se forman

nuevas asociaciones. Así, la principal distinción entre las teorías de pérdida asociativa y las de nuevo aprendizaje es que en estas últimas se postula que la asociación excitatoria original permanecería intacta durante la formación de las nuevas asociaciones. Dentro de este tipo de teorías se encuentran aquellas que postulan a la interferencia como mecanismo de respuestas antagonistas que compiten para impedir la RC tal como lo planteo Amsel en 1962. Por otra parte también se incluyen dentro de esta categoría las teorías de la inhibición que proponen que la supresión de la RC como consecuencia de la adquisición de una asociación negativa entre estímulos, tal como lo postuló Pavlov en 1927, Konorski en 1967 y más recientemente Bouton en 1993 quien hace la salvedad de que la expresión de la extinción se restringe en gran medida al contexto de su aprendizaje, mientras que la adquisición puede ser generalizada a contextos menos semejantes.

#### Decremento en la Generalización

Este mecanismo atribuye la pérdida de respuesta en la extinción a un decremento en la generalización entre los episodios de adquisición y la extinción, que surge a medida que el sujeto encuentra progresivamente estímulos nuevos que difieren de aquellos que controlaba al responder durante la adquisición. En su forma básica el mecanismo de decremento en la generalización asume únicamente cambios en la ejecución y no supone ni aprendizaje ni desaprendizaje, sino que sostiene que una respuesta que fue establecida durante una organización particular de estímulos será menos probable de ocurrir cuando la organización cambia. Como propuso Capaldi (1994), la omisión del refuerzo durante la extinción asegurará que la memoria de la presencia de estímulo condicionado en los ensayos previos sea reemplazada por la memoria de la ausencia del estímulo incondicionado y por tanto eliminaría el conjunto de eventos que fueron asociados con el reforzamiento durante la adquisición y por tanto la respuesta decaería como consecuencia del cambio en la memoria relacionada con las condiciones de estimulación.

#### Pérdida No-Asociativa

Este mecanismo atribuye la pérdida progresiva de respuesta durante la extinción a la reducción en la fuerza de la activación de los elementos individuales de la asociación entre estímulos. Para Pavlov (1927), la presentación únicamente del EC a lo largo de la extinción

implica una dificultad progresiva para activar la asociación EC-EI y entonces la dificultad para emitirse la respuesta radicaría en una reducción del procesamiento del EC, idea semejante a las que se postulan actualmente las teorías atencionales que postulan una reducción en la saliencia del EC. Por su parte Rescorla y Cunningham postularon en 1977 que la magnitud y calidad de la representación del EI juega un papel fundamental en la expresión de la asociación EI-EC. Así, la RC es un producto de la fuerza asociativa entre EI-EC y la integridad de la representación del EI activada a lo largo del condicionamiento, por lo que durante la extinción la representación del EI es deteriorada como consecuencia de ser activada por el EC en ausencia del EI.

Finalmente, se puede decir que hasta el momento ninguno de los mecanismos expuestos ha sido descartado y adicionalmente, ninguno de ellos es mutuamente excluyente.

#### Extinción del Aprendizaje Espacial

Actualmente se plantea que la extinción es un proceso de aprendizaje activo a través del cual el animal aprende que una asociación previamente adquirida ha dejado de ser válida, y se forman y consolidan nuevas memorias acerca de la pérdida de la relación entre estímulos (Lattal & cols, 2004; Quirk & Mueller, 2008). Como se describió anteriormente la extinción implica la adquisición de nueva información, donde la asociación inicial queda parcialmente intacta (Falls, 1998; Gaerlick & Storm, 2005) y se considera un proceso diferente al olvido (Skinner, 1953) consistente en la real pérdida de memorias por el decaimiento de las sinapsis involucradas o por la pérdida física de neuronas o sinapsis como consecuencia del paso del tiempo o generada por una enfermedad (Vianna, Cammarota, Coitinho, Medina & Izquierdo, 2003).

En los paradigmas de aprendizaje espacial, el animal es puesto en una situación aversiva, de la cual escapa al ubicar y alcanzar un lugar particular dentro del laberinto, por lo que aprende una respuesta de preferencia espacial, la cual es susceptible de ser extinta cuando se impide que la respuesta de preferencia termine con la estimulación aversiva. En este sentido, se puede proponer que el entrenamiento en laberintos, como el radial, el de Morris o el de Barnes, comparte algunas características con los protocolos de refuerzo negativo de respuestas operantes relacionadas con la frecuencia y latencia de la respuesta tanto en las fases de adquisición como de recuperación y extinción.

El proceso de extinción durante el aprendizaje espacial implica que los organismos aprenden que las relaciones previamente establecidas entre estímulos se han roto, y entonces se forman y consolidan nuevas memorias (Lattal & Cols, 2004). Múltiples investigaciones han demostrado la similitud entre la extinción en tareas de aprendizaje espacial y la extinción en otras formas de condicionamiento puesto que las preferencias espaciales extinguidas son susceptibles de ser recuperadas de forma espontánea o reaparecer en contextos similares (Lattal & Abel, 2001; Lattal & cols, 2004).

Para evaluar el aprendizaje espacial se han utilizado múltiples instrumentos además de la piscina de Morris, siendo los más usados el laberinto radial de ocho brazos y el laberinto de Barnes, sin embargo su extinción sólo ha sido evaluada en la piscina de Morris utilizando ratones como sujetos, y en el Laberinto de Barnes en tres trabajos inéditos realizados en el Laboratorio de Neurofisiología Comportamental de la Universidad Nacional de Colombia, donde se observó la extinción de la respuesta aprendida y la facilitación de una readquisición en el mismo contexto posterior a la extinción (Angueyra, & Arcos-Días, 2005; Carvajal, 2006; Torres, 2006). En el laberinto de Barnes el animal escapa de una situación aversiva, como lo es la exposición a un medio abierto e iluminado. Las observaciones que hizo Barnes sobre la ejecución de los animales en el laberinto le permitieron proponer una serie de estrategias que los animales pueden utilizar para llegar a la caja meta, entre ellos patrones aleatorios de exploración, patrones de exploración serial y patrones de recobro directo que estarían basados en el aprendizaje cartográfico (Redish, 1999). Aunque es menos popular que la piscina de Morris, el laberinto circular de Barnes ofrece algunas ventajas como su facilidad para la manipulación del animal y el manejo de menores niveles de estrés asociados a la tarea (Carrillo-Mora, Giordano & Santamaria, 2009; Harrison, Hosseini & McDonald, 2009).

### **Mecanismos Neuroquímicos del Aprendizaje y la Memoria**

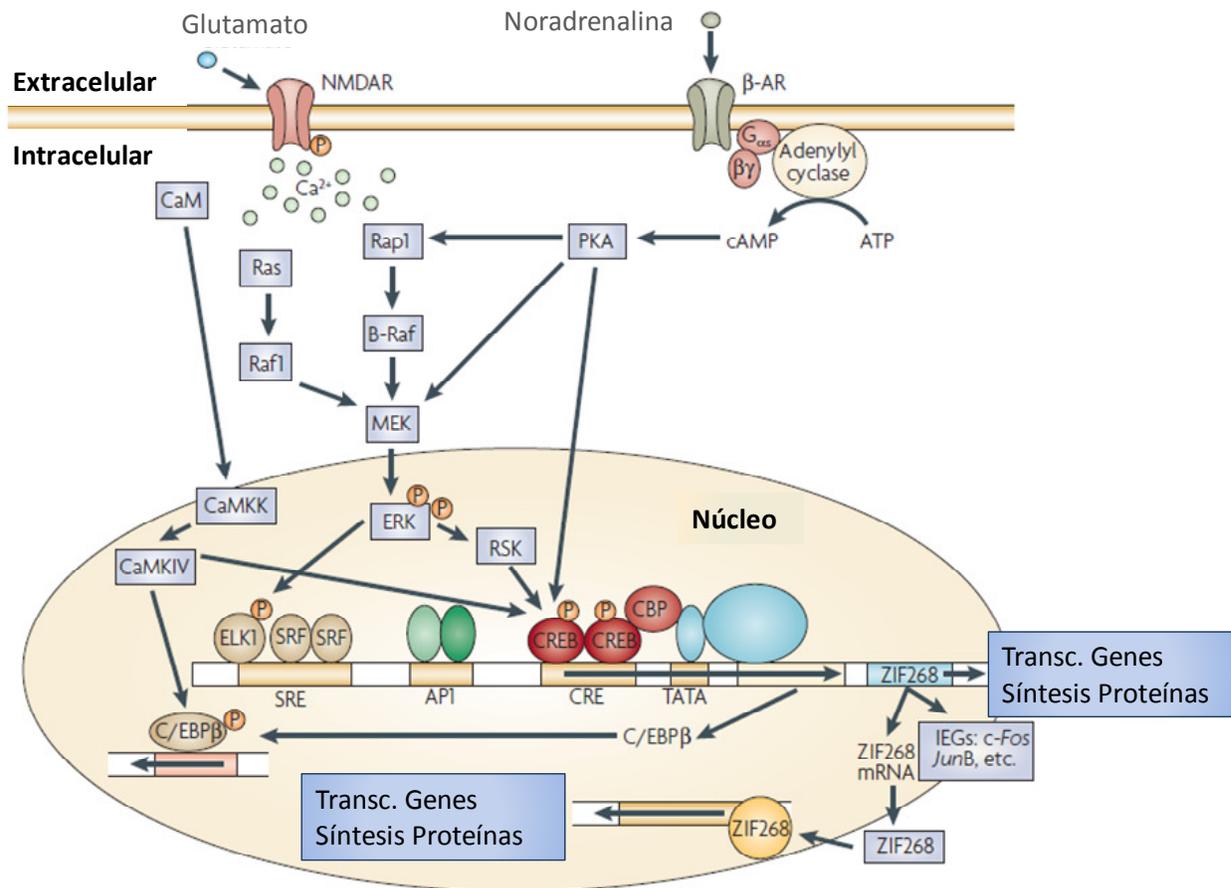
Como ha sido planteado por los psicofisiólogos a partir de los experimentos desarrollados en este campo desde fines del siglo XX, múltiples aspectos de la conducta son el resultado de la capacidad de aprender de la experiencia que conduce a cambios valorables en la neuroquímica y neuroanatomía del cerebro (Rosenzweig & Leiman, 1992), implicando mecanismos celulares y moleculares subyacentes a los distintos tipos de aprendizaje y memorias (Kandel & cols, 1997).

Desde esta perspectiva, muchas explicaciones de la memoria sugieren que una experiencia de aprendizaje inicial desencadena una cascada de eventos celulares y moleculares que son requeridos para la consolidación de la memoria, de un estado lábil a uno permanente, donde los cambios en la actividad de transcripción génica y nueva síntesis de proteínas son componentes críticos de los procesos de consolidación de lo aprendido (Lattal & cols, 2006).

La investigación acerca de los mecanismos neurobiológicos del aprendizaje y la memoria se ha convertido en una prominente línea de investigación desde mediados del siglo XX donde una de las líneas de investigación más fortalecidas se centra en la búsqueda de los mecanismos implicados en la consolidación de la memoria. La pregunta central que se ha formulado es ¿A través de qué procesos la experiencia enriquecida y el entrenamiento formal dan lugar a cambios plásticos en la neuroquímica y la neuroanatomía cerebral? La evidencia aportada por múltiples investigaciones ha demostrado que tanto la expresión génica (ADN-ARN) como la síntesis de proteínas parecen estar involucradas (para revisión consultar Rosenzweig, 2007).

Múltiples investigaciones han rastreado partes de la cascada de eventos neuroquímicos desencadenados desde la estimulación inicial hasta la síntesis de proteínas y los cambios estructurales en las neuronas. En términos generales la cascada inicia cuando los estímulos sensoriales activan los órganos receptores, los cuales estimulan las neuronas aferentes a través de diversos transmisores sinápticos, tales como la acetilcolina (ACh) y el glutamato, implicados en procesos de aprendizaje, los cuales se unen a receptores específicos en la neurona postsináptica (tales como los NMDA, AMPA o Kainato). Una vez que los receptores son alcanzados por el neurotransmisor, los canales iónicos se abren o se activan segundos mensajeros dentro del citosol activando los canales, lo que permiten la entrada de calcio a la célula. El calcio luego activa proteínas quinasas tales como la calcio-calmodulina (CaMKII), la proteína quinasa A (PKA) o la proteína quinasa C (PKC) que son enzimas que catalizan la adición de moléculas de fosfato a las proteínas. Las proteínas quinasas entran al núcleo celular y fosforilan, entre otros, el factor de transcripción CREB (elemento de respuesta al AMPc), lo que da inicio a procesos de transcripción génica y por tanto a la síntesis de ARNm y de proteínas *de novo*, procesos implicados en el aumento de número de receptores, cambios en la morfología sináptica, incremento en el número de sinapsis y en último término cambio en la actividad

eléctrica de la neurona (para revisión consultar Rosenzweig, 2007; Tronson & Taylor, 2007). En la Figura 1. Aparece descrito de manera esquemática las principales señales moleculares reportadas con relación a los procesos de consolidación y reconsolidación de la memoria.



**Figura 1.** Mecanismos moleculares de la consolidación y reconsolidación de la memoria. Los receptores  $\beta$ -adrenérgicos ( $\beta$ -AR) y los receptores glutamatérgicos tipo NMDA (NMDRs) permiten la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  y activan pequeñas GTPasas (Ras, Raf y Rap) modulando la vía de quinasas externamente regulada (ERK). La proteína quinasa A (PKA) es activada por el AMP cíclico (cAMP) y actúa directamente sobre ERK y la proteína quinasa ribosomal S6 (RSK) para activar factores de transcripción como la proteína de unión al elemento de respuesta AMPc (CREB) que inician la transcripción genética. Los genes de transcripción temprana c-Fos y JunB37 son necesarios para el proceso de reconsolidación. También se han identificado un papel para la calcio calmodulina (CaM) y la proteína quinasa dependiente de calciocalmodulina (CaMKII). Figura reproducida con modificaciones a la presentada por Taylor & Tronson en Nature Reviews Neuroscience vol 8, abril de 2007, pag. 269.

Cambios en la actividad eléctrica de las neuronas se han relacionado con los fenómenos de plasticidad sináptica a corto y largo plazo como la facilitación y la inhibición por pulsos pareados, la potenciación post-tetánica, la potenciación y depresión a corto y largo plazo. Los fenómenos de plasticidad típicamente relacionados con la memoria a largo plazo son los de potenciación a largo plazo y depresión a largo (LTP y LTD por sus siglas en inglés respectivamente) (Gómez-Palacio & Escobar-Rodríguez, 2007). El fenómeno resultante tanto de la LTP como de la LTD son alteraciones bioquímicas que comportan modificaciones plásticas duraderas que se prolongan de horas a días (Bailey & Kandel, 1993; Bailey, Kandel, Si, 2004). Estos protocolos suelen hacerse en el hipocampo, dada su estructura y organización, aunque protocolos similares de LTP y LTD se han realizado en la corteza (Tsumoto, 1992) y LTD en el cerebelo (Llinas, Lang & Welsh, 1997). Investigaciones recientes demuestran que ambos procesos electrofisiológicos se relacionan con las fases de adquisición y extinción de respuestas aprendidas por condicionamiento clásico (Gruart, Muñoz & Delgado, 2006), y requieren de síntesis de nuevas proteínas para ser duraderos (Martin, Grimwood & Morris, 2000; Kandel, 2001; Inda, Delgado & Carrión, 2005).

#### Memoria y Síntesis de Proteínas

Si bien el requerimiento de la síntesis de proteínas durante la adquisición ha sido demostrada en múltiples formas de aprendizaje, incluyendo el aprendizaje espacial en la piscina de Morris (Lattal & Abel, 2001), hasta ahora está siendo explorado el papel de la síntesis de proteínas durante la consolidación y reconsolidación de la información espacial a largo plazo, así como su posible condición de necesidad para la consolidación de las memorias relacionadas con la extinción de la preferencia espacial.

A mediados del siglo XX se propuso por primera vez que las experiencias vividas por los organismos daban lugar a cambios neuroquímicos y neuroanatómicos implicados en la formación de la memoria, los cuales tendrían como requisito la síntesis de proteínas en las neuronas (Hernández & Abel, 2008). Dicha hipótesis fue inicialmente sustentada por hallazgos que indicaban que tanto la experiencia enriquecida, como el entrenamiento formal se relacionaban con incrementos en las tasas de síntesis de proteínas y sus precursores en la corteza cerebral de pollos y ratas (Rosenzweig, 2007).

A partir de la década de los 70 ésta hipótesis ha sido puesta a prueba de manera experimental gracias al desarrollo de inhibidores de síntesis de proteínas tales como la Puromicina y la Cicloheximida, y más recientemente de la Anisomicina que es un antibiótico bacterial aislado del *Streptomyces griseolus* que inhibe la síntesis de proteínas al unirse a las subunidades ribosomales 80S bloqueando la formación de enlaces peptídicos, previniendo por tanto la elongación y causando problemas de estabilización del polirribosoma (Flood, Rosenzweig, Bennett & Orme, 1973; Hernández & Abel, 2008). A través de la inyección de este tipo de fármacos en distintas estructuras cerebrales y variando los intervalos de tiempo de administración antes o después del aprendizaje de tareas conductuales, se obtuvo evidencia de la participación de la síntesis de proteínas en la formación de la memoria a largo plazo en distintas especies, por lo que se ha sugerido que la expresión génica y de la síntesis de proteínas *de novo* son requisitos necesarios para la consolidación de la memoria a algo plazo (McGaugh, 2000; Kandel, 2001; Hernández & Abel, 2008; Medina, Bekinschtein, Cammarota & Izquierdo, 2008).

Si bien inicialmente se creía que la consolidación era un proceso mediante el cual se fijaban los trazos de memoria y que ocurría sólo una vez después de la adquisición inicial de la información, evidencia posterior demostró que la información almacenada en la memoria podía entrar nuevamente en una fase de consolidación al ser reactivada por exposición al contexto del aprendizaje, lo cual permitiría la actualización e integración de nueva información en la memoria de largo término; este fenómeno se ha denominado reconsolidación (Nader, Schafe & LeDoux, 2000; Debiec, LeDoux & Nader, 2002), proceso que estaría conservado evolutivamente apareciendo al menos desde los crustáceos (Pedreira, Pérez-Cuesta & Maldonado, 2002).

El proceso de reconsolidación ha sido frecuentemente comprendido como una nueva fase de consolidación, que es necesaria dado que la reactivación de la memoria hace que ésta entre en un nuevo periodo de labilidad. En esta fase la memoria es otra vez susceptible de modificarse y de ser afectada por agentes amnésicos tales como los inhibidores de síntesis de proteínas. La administración de estos fármacos minutos antes o después de la recuperación en tareas de aprendizaje por condicionamiento afecta esta segunda fase de consolidación, por lo

que la información aprendida originalmente no puede ser posteriormente evocada (Alberini, 2005; Morris & cols, 2006).

El papel de la síntesis de proteínas en los procesos de consolidación y reconsolidación ha sido frecuentemente estudiado en tareas de condicionamiento clásico. En estos paradigmas de aprendizaje, el animal a lo largo de varios ensayos asocia un estímulo incondicionado, tal como un choque eléctrico (EI), con un estímulo inicialmente neutro, como un tono o un contexto ante el cual se administra una descarga eléctrica (EC); en la primera oportunidad en que esto ocurre un animal tal como una rata, muestra una respuesta incondicionada de sobresalto (RI) ante el choque eléctrico, y en posteriores ensayos exhibe una respuesta de congelamiento *-freezing-* (RC) ante la sola presencia del tono o del contexto (EC). Aunque un reciente estudio muestra que también afecta la reconsolidación y extinción en tareas operantes de tipo apetitivo (Mierzejewski, Olczak, Rogowski, Kostowski, Samochowiec, Filip, Przegalinski & Bienkowski, 2008)

Se ha observado, que cuando se administra un inhibidor de síntesis de proteínas poco antes o después de la adquisición de la tarea, así como alrededor del momento de su recuperación, la memoria del evento se ve comprometida a largo plazo, por lo que el animal no exhibe la respuesta condicionada al ser evaluado 24 horas más tarde (Nader & cols, 2000; Debiec & cols, 2002; Suzuki, Josselyn, Frankland, Masushige, Silva & Kida, 2004).

Resulta interesante que este efecto de reconsolidación es dependiente tanto de la intensidad del entrenamiento como de la edad de la huella mnésica y de la duración de la exposición al estímulo condicionado (EC) en ausencia del estímulo incondicionado (EI) (Suzuki & cols, 2004; Rodríguez-Ortiz, Garcia-DeLaTorre, Benavidez, Ballesteros & Bermudez-Rattoni, 2008). Varios estudios han demostrado que cuando el intervalo de exposición al EC en ausencia del EI es corto, la inyección de inhibidores de síntesis de proteínas comprometen la reconsolidación de la información previamente aprendida; por el contrario, cuando el intervalo de exposición al EC se prolonga, se da inicio a la extinción de la respuesta, y entonces, la consolidación de la extinción se ve comprometida por la inhibición de la síntesis de proteínas, por lo que en las pruebas el animal exhibe la respuesta originalmente aprendida (Pedreira & Maldonado, 2003; Suzuki & cols, 2004; Rodríguez-Ortiz & cols, 2008).

Si bien estos estudios han determinado de manera consistente un papel para la síntesis de proteínas en la consolidación de la información adquirida inicialmente, así como para su reconsolidación y extinción cuando se utilizan protocolos de aprendizaje por condicionamiento pavloviano, su participación en la formación de otros tipos de memorias como aquellas involucradas en la discriminación de olores en ratas y abejas (Staubli, Faraday & Lynch, 1985; Wittstock, Kaatz & Menzel, 1993), la discriminación del color en abejas (Kurotani, Higashi, Inokawa & Toyama, 1996) y el aprendizaje espacial en roedores ha resultado menos consistente (Lattal & Abel, 2001; Lattal & cols, 2004; Morris & cols, 2006; Rodríguez-Ortiz & cols, 2008).

### Consolidación de la Memoria Espacial

Uno de los primeros reportes de investigación que presentaron evidencia a favor de la participación de la síntesis de proteínas en el aprendizaje espacial fue el presentado por Meiri y Roseblum (1998) utilizando ratas Wistar Macho en el laberinto acuático de Morris. Los datos indicaron que la consolidación de la memoria espacial para un aprendizaje inicial era susceptible de ser alterada por la inhibición de la síntesis de proteínas cuando el fármaco era administrado en los ventrículos laterales 20 minutos antes de la adquisición. Así mismo estos investigadores identificaron que el deterioro en la memoria era dosis dependiente, y que su administración no afectaba el desempeño a corto plazo, como tampoco el aprendizaje posterior una vez que el efecto de la inhibición había pasado.

Posteriores investigaciones reportaron hallazgos similares. Por ejemplo, Lattal y Abel (2001) y Lattal y colaboradores (2004) encontraron que en ratones la memoria de una preferencia espacial adquirida en el laberinto acuático de Morris, así como la reversión de dicha preferencia, eran susceptibles de ser alteradas por el inhibidor de síntesis de proteínas Anisomicina cuando fue administrado 30 minutos antes del entrenamiento.

De manera similar Morris y sus colaboradores (2006) demostraron que la microinyección de Anisomicina en el hipocampo de ratas, inmediatamente después de su entrenamiento en el laberinto acuático, daba lugar a un deterioro en la recuperación de la memoria en el momento de la prueba.

Si bien la mayor parte de los reportes acerca de la formación de la memoria a largo plazo para la adquisición inicial de la información apuntan a un efecto deletéreo cuando se

compromete la síntesis de proteínas (independientemente de la forma de administración del fármaco y de la especie), un reporte reciente indica que este efecto parece estar mediado por la fortaleza del aprendizaje previo al tratamiento con el inhibidor. Rodríguez y sus colaboradores (2008) encontraron que dependiendo de la cantidad de entrenamiento recibido antes de la primera inyección de Anisomicina post entrenamiento, la memoria podía verse comprometida o no. Estos investigadores reportan que cuando el entrenamiento era moderado, la memoria era susceptible de ser alterada, mientras que cuando el entrenamiento era más intenso, no se observaba efecto al momento de evaluar la memoria a largo plazo. Adicionalmente, reportan que a diferencia de otros estudios, se observaron efectos de la Anisomicina sobre la ejecución durante el entrenamiento en Extinción, y que dichos efectos parecían indicar un compromiso para la recuperación de la información previamente aprendida.

#### Reconsolidación de la Memoria Espacial

De forma similar a lo observado en la consolidación inicial de la información, varios estudios han reportado un papel para la síntesis de proteínas en la reconsolidación del aprendizaje espacial. Por ejemplo, Suzuki y colaboradores (2004) observaron que la preferencia espacial adquirida en el laberinto de Morris podía ser modificada cuando se inyectaba Anisomicina intraperitonealmente a ratones 30 minutos antes de una exposición al laberinto, y se les permitía nadar en ausencia de plataforma por 60 segundos. Durante este ensayo único tanto los animales inyectados con vehículo como los animales con Anisomicina prefirieron el cuadrante donde habían aprendido a encontrar la plataforma, sin embargo, al evaluar su memoria 24 horas después sólo aquellos inyectados con vehículo mostraron preferencia por el cuadrante objetivo. Estos resultados son congruentes con los reportados por ellos mismos al utilizar una tarea de condicionamiento clásico (Suzuki & cols, 2004).

Estos hallazgos son consistentes con lo reportado por Morris y colaboradores (2006), quienes observaron que la infusión intrahipocampal de Anisomicina inmediatamente después de una prueba no reforzada produjo una disminución significativa en la preferencia espacial cuando esta fue evaluada 24 horas después; sin embargo, estos efectos los relacionan con la necesidad de que la memoria haya sido previamente reactivada, ya que cuando se evaluaron posibles

efectos inespecíficos de la infusión del fármaco, sin previa exposición de los animales al contexto de aprendizaje, no se observaron efectos en la prueba de memoria a largo plazo.

A una conclusión similar llegaron Rodríguez-Ortiz y sus colaboradores (2008), haciendo la salvedad de que este efecto se presentaba únicamente cuando los animales habían recibido un entrenamiento moderado antes del tratamiento sobre la recuperación de la formación, por lo que aquellos animales que habían sido previamente bien entrenados tenían un trazo de memoria que no era sujeta a modificaciones a través de la alteración del proceso de reconsolidación.

### Consolidación de la Extinción en Tareas de Aprendizaje Espacial

Recientemente se ha generado un creciente interés por determinar las bases celulares y moleculares que subyacen al proceso de extinción, así como por establecer cuáles de éstas se comparten con la adquisición inicial de la información y cuáles de ellas le son propias. Sin embargo, es poco lo que se sabe con certeza en torno a los mecanismos moleculares de la memoria para el proceso de extinción, lo cual es especialmente cierto para el caso del aprendizaje espacial.

Los estudios realizados en torno a la participación de la síntesis de proteínas en la extinción del aprendizaje espacial arrojan resultados contradictorios, por lo que su participación parece estar sujeta a las características del aprendizaje previo que ahora es sujeto a extinción (Hernández & Abel, 2008).

El primer estudio que exploró la relación entre síntesis de proteínas y extinción del aprendizaje espacial fue el desarrollado por Lattal y Abel (2001). En esta investigación los autores encontraron que la inhibición sistémica de la síntesis de proteínas 30 minutos antes de la extinción era incapaz de prevenir la formación de memoria para la extinción de la preferencia espacial. Un estudio posterior (Lattal & cols, 2004) mostró resultados similares, lo que llevó a estos investigadores a postular que la memoria para el nuevo aprendizaje que supone la extinción tendría que estar sustentada por mecanismos independientes de la síntesis de proteínas tales como la reorganización de las fibras del citoesqueleto, la alteración de la morfología de las espinas dendríticas o la internalización de receptores glutamatergicos como los tipo AMPA (Lattal & cols, 2006).

De manera similar, Morris y sus colaboradores (2006) tampoco encontraron que la extinción de un previo aprendizaje de tipo espacial se viera afectado por la inhibición de la síntesis de proteínas, cuando el fármaco era administrado inmediatamente después de las sesiones de entrenamiento no reforzadas, por lo que se sugiere que habrían mecanismos alternativos para la consolidación a largo plazo de la memoria de la extinción.

A pesar de que las investigaciones mencionadas anteriormente no encontraron un compromiso en la memoria de la extinción como consecuencia de la inhibición de la síntesis de proteínas, Suzuki y colaboradores (2004), así como Rodríguez-Ortíz y colaboradores (2008) encontraron efectos generados por la inyección de Anisomicina intraperitoneal e intrahipocampal en ratones y ratas. En su estudio Suzuki y colaboradores (2004) muestran como tras 10 ensayos de extinción bajo los efectos del fármaco los animales eran capaces de mostrar un proceso normal de extinción a corto plazo, que sin embargo no se exhibía 24 horas después. Por su parte Rodríguez-Ortíz y colaboradores (2008) mostraron que la infusión de Anisomicina generaba un efecto sobre el proceso de recuperación de la memoria previamente consolidada, por lo que los animales no exploraban desde el inicio del proceso de extinción el cuadrante objetivo, y tampoco lo hacían siete días después del entrenamiento en la prueba de evaluación de la extinción.

Así, a pesar del amplio conocimiento que se tiene acerca de los principios conductuales del aprendizaje, es poco en proporción el conocimiento que se tiene sobre las características particulares de la extinción, y menos aún sobre su sustrato neurobiológico (Lattal & cols, 2004).

En este sentido, la extinción es un proceso estimulante para estudiar a nivel celular y molecular ya que, aunque comparte mucho en común con el aprendizaje inicial, parece comprometer procesos comportamentales y asociativos únicos.

## JUSTIFICACIÓN

El estudio de los fundamentos neurobiológicos del aprendizaje y la memoria ha utilizado extensamente modelos animales que permiten el estudio controlado de distintos agentes farmacológicos. En este camino, múltiples hallazgos apuntan a que la plasticidad sináptica es un proceso celular fundamental para el aprendizaje y la memoria. En las últimas décadas se ha desarrollado una cantidad importante de investigaciones que muestran cómo la síntesis de proteínas es un proceso necesario para fenómenos como la potenciación a largo plazo (LTP), la depresión a largo plazo (LPD) (para revisión consultar Martin & cols, 2000), así como para la adquisición de diversos aprendizajes, dentro de los cuales se han estudiado principalmente el condicionamiento clásico de respuestas emocionales (para revisión consultar McGaugh, 2000; Rodríguez, Schafe & LeDoux, 2004). Dicho interés está motivado en buena medida por las implicaciones terapéuticas que se pueden desprender para el tratamiento farmacológico de problemas comportamentales tales como desordenes de ansiedad, abuso de sustancias, y trastornos del desarrollo (Lattal, 2006).

Este tipo de investigaciones también se ha desarrollado en el campo del aprendizaje y la memoria espacial (Morris & Frey, 1997), donde se ha hecho énfasis en el papel de la síntesis de proteínas en la adquisición de la memoria. La investigación en este campo se ha concentrado en el estudio de los periodos de tiempo en los cuales las memorias de los aprendizajes son almacenadas a largo plazo (Meiri & Rosenblum, 1998; Debiec, & cols, 2002).

A pesar del extenso trabajo desarrollado sobre el papel de la síntesis de proteínas en la consolidación de la extinción en protocolos de condicionamiento clásico, son escasos los reportes en tareas de aprendizaje espacial, y los hallazgos reportados por estos estudios son inconsistentes, por lo cual en la actualidad se estudian múltiples variables relacionadas con el protocolo experimental para la adquisición y la extinción de las respuestas de preferencia espacial (Lattal, 2006). Así, en la actualidad se cuenta con poca evidencia de los efectos de la inhibición de la síntesis de proteínas sobre la consolidación de la extinción del aprendizaje espacial y los efectos observados son difíciles de atribuir a la síntesis de proteínas *de novo* en lugar de a otros procesos celulares desencadenados en las primeras fases de las cascadas de

señalización celular (Lattal & Abel, 2001; Lattal & cols, 2004; Morris & cols, 2006; Rodríguez-Ortiz & cols, 2008).

Adicionalmente, las investigaciones desarrolladas acerca del aprendizaje espacial han mostrado que el almacenamiento de la memoria a largo plazo puede ser afectado durante las fases de consolidación y reconsolidación, las cuales son susceptibles a la inhibición de la síntesis de proteínas durante varias ventanas temporales (Quevedo, Vianna, Roesler, de-Paris, Izquierdo, & Rose, 1999).

## OBJETIVOS

### General

Determinar los efectos de la administración intracerebroventricular del inhibidor de la síntesis de proteínas Anisomicina sobre la consolidación de la memoria de la extinción de un aprendizaje espacial en el laberinto circular de Barnes.

### Específicos

- a) Establecer la diferencia entre los cambios conductuales debidos al proceso de extinción de aquellos ocurridos como consecuencia del paso del tiempo (olvido desde el momento de la recuperación hasta 48 horas después) en una tarea de aprendizaje espacial.
- b) Identificar el papel de la síntesis de proteínas *de novo* en la consolidación de la memoria de la extinción de un aprendizaje espacial en el laberinto circular de Barnes.
- c) Evaluar el efecto de la inhibición de la síntesis de proteínas durante el periodo de olvido 24 horas después de la reactivación de la memoria de adquisición de la preferencia espacial.

## HIPÓTESIS

- a) Se espera encontrar diferencias en la conducta relacionada con los procesos de extinción y olvido al evaluar a largo plazo la respuesta de preferencia espacial.
- b) Se espera que, si la inhibición de la síntesis de proteínas es un proceso necesario para la consolidación de la extinción, entonces su inhibición farmacológica deteriore la recuperación de la extinción a largo plazo.
- c) Se espera que la inyección del inhibidor de la síntesis de proteínas en ausencia de entrenamiento de extinción no tenga efectos sobre la memoria, a menos que el proceso de síntesis de proteínas sea requerido para la consolidación, aún 24 horas después de la activación de la memoria por la prueba de recuperación.

## MÉTODO

### Sujetos Experimentales

En el experimento se emplearon 27 ratas Wistar macho con un peso de  $320 \pm 20$  g provenientes del Bioterio del Instituto Nacional de Salud de Colombia. Los animales fueron alojados grupalmente, en cajas comunitarias de polietileno, con cuatro animales en cada caja. Se ajustó un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas (con luces encendidas a las 7:00 AM) y se permitió el libre acceso a agua y comida. Antes de ser sometidos a cirugía los animales permanecieron en el Bioterio del Laboratorio de Aprendizaje y Comportamiento Animal durante siete días a lo largo de los cuales eran manipulados por el experimentador.

### Materiales y Equipos

#### Cirugía Estereotáxica

Los animales fueron anestesiados con Tribromoetanol (250mg/kg de peso corporal) inyectado intraperitonealmente, y posicionados en un aparato estereotáxico (Marca Narishige SR6N). Se les implantó de manera crónica y unilateral una cánula de acero inoxidable (22G) en uno de los ventrículos laterales; se balanceó entre cada grupo el ventrículo que recibió el implante, de manera tal que el tratamiento farmacológico se pudiera administrar a la mitad de los animales en el ventrículo derecho y la otra mitad en el izquierdo. Se utilizó el Atlas de Paxinos y Watson (1998) del cerebro de ratas Wistar, y se siguieron las siguientes coordenadas para la implantación de la cánula: Antero-Posterior -0.8mm, Medio-Lateral  $\pm 1.5$  mm y Dorso-Ventral 3.2mm (Anexo 2). La cánula fue asegurada con dos tornillos fijados al cráneo yacrílico dental. Se les permitió a los animales recuperarse de la cirugía durante 4 días.

#### Tratamiento farmacológico

Anisomicina (SIGMA, St. Louis, U.S.A.) disuelta en ácido clorhídrico (HCL) e hidrato de Sodio (NaOH) equimolar, ajustado a un Ph neutro de 7.0 alcanzando una concentración final de  $40\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . Se administró de manera intracerebroventricular, usando una microjeringa Hamilton, una dosis de  $400\mu\text{g}$  de Anisomicina, que ha mostrado ser efectiva (Meiri & Rosenblum, 1998), en un volumen de  $10\mu\text{l}$  (Bardgett, Humphrey & Csernansky, 2001) a una tasa de  $2\mu\text{l}$  por minuto. Los animales con vehículo recibieron un vehículo producto de la reacción el HCL (1M) y NaOH

(1M) ajustada a un Ph de 7.0 obteniéndose solución salina isotónica que se administró en el mismo volumen y a la misma tasa que la Anisomicina.

### Aparatos

El laberinto de Barnes consiste en una plataforma circular de 1.22 m de diámetro de acrílico negro, elevada noventa centímetros del suelo. En la periferia de dicha plataforma se encuentran 18 orificios de 9,5 cm de diámetro bajo los cuales se puede insertar una caja de escape (Barnes, 1979). Los animales inician la exploración del laberinto desde una caja de salida localizada en el centro de la plataforma que es retirada a través de un sistema de poleas (en el Anexo 1 se presenta el Laberinto Circular de Barnes).

Las sesiones fueron registradas a través de un circuito cerrado de televisión y grabadas con la ayuda de un grabador de DVD para su posterior análisis.

Se utilizó asimismo un Criostato (marca Leica CM1850) el cual permitió la obtención de cortes del cerebro del animal con un grosor de 50 micras, para la posterior identificación de la posición de la cánula en el ventrículo lateral correspondiente.

### Procedimiento

Para establecer el protocolo de entrenamiento se realizaron dos pruebas piloto. La primera fue incluyó una pequeña modificación (adición de una prueba con caja antes del entrenamiento en extinción) al protocolo que venía utilizándose en los experimentos desarrollados en el grupo de Neurofisiología comportamental. Se utilizaron 8 animales entrenados con 8 ensayos de adquisición, evaluados 24 horas después con una prueba con caja, una prueba sin caja y otra prueba con caja, seguido del entrenamiento en extinción con ocho ensayos no reforzados. Este protocolo suponía una ventaja en términos de la evaluación del aprendizaje original, antes de cualquier tratamiento sobre el proceso de extinción. Sin embargo, al comparar este protocolo con el original se encontró un efecto semejante al de refuerzo parcial (Prados, Sansa & Artigas, 2008), ya que el proceso de extinción se vio dificultado (Claro, Vargas, Cuestas, Lamprea, Troncoso, Múnera, 2008). En vista de las dificultades presentadas por el primer piloto, se decidió evaluar la adquisición con una sola prueba con caja y separarla del proceso de extinción, de manera tal que el tratamiento farmacológico estuviera presente únicamente en esta fase. Para este piloto se utilizaron 20 ratas distribuidas en dos grupos, todos

los animales fueron entrenados y evaluados en el laberinto pero solo la mitad de ellos recibió el entrenamiento en extinción, el resto de los animales permanecieron en su caja hogar durante el periodo de tiempo que tomaba el entrenamiento y pasadas 24 horas fueron evaluados en una prueba post-tratamiento. Este protocolo permitió identificar que los animales adquirían, recuperaban y extinguían la preferencia espacial de manera adecuada, y que el desempeño en la prueba post-tratamiento difería entre los grupos entrenados y no entrenados en extinción, por lo que se eligió para el presente experimento, que se detalla a continuación:

Posterior al periodo de aclimatación al Bioterio del Laboratorio, todos los animales fueron entrenados individualmente en el aprendizaje de la tarea de escape en el laberinto circular de Barnes mediante el siguiente protocolo:

#### *Día 1. Habitación*

Los animales fueron trasladados al laberinto en una caja de transporte de icopor para aislarlos de ruido y una vez allí fueron introducidos directamente en la caja meta por un periodo de dos minutos, pasado este intervalo fueron ubicados nuevamente en la caja de transporte donde permanecieron un minuto. Pasado este intervalo los animales fueron introducidos nuevamente en la caja meta, pero esta vez emplazada en el orificio correspondiente de la plataforma, permitiendo su permanencia por un periodo adicional de dos minutos y luego puestas nuevamente en la caja de transporte por un minuto. Finalmente los animales fueron colocados en la caja de salida durante dos minutos y al final de este intervalo se llevaron en la caja de transporte hacia su caja hogar.

#### *Día 2. Adquisición*

Los animales fueron llevados a la sala de experimentación en la caja de transporte y ubicados en la caja de salida por un periodo de treinta segundos. Trascurrido este periodo se activó el sistema de sonido y luces al tiempo que se liberó a los animales de la caja de salida por medio de un sistema de poleas. El ensayo finalizó cuando las ratas se introdujeron por sí mismas en el agujero que tenía emplazada la caja meta, o cuando se cumplieron cuatro minutos de exploración sin encontrar la meta, en este caso los animales fueron conducidos por el experimentador hacia el agujero. Una vez los animales se encontraban dentro de la caja meta se

les dejaba allí por un minuto y luego eran retirados del laberinto y puestos en otra caja, donde permanecían por cuatro minutos antes de empezar el siguiente ensayo.

Se realizaron en total ocho ensayos reforzados para cada uno de los animales siguiendo el protocolo antes descrito. Al finalizar la sesión los animales fueron llevados de vuelta en la caja de transporte hacia su caja hogar.

El intervalo de cuatro minutos entre ensayos fue utilizado por el experimentador para limpiar con alcohol etílico al 10% el laberinto, borrando así posibles claves olfativas dejadas por los animales durante el entrenamiento.

#### *Día 3. Recuperación*

Veinticuatro horas después de la sesión de entrenamiento, los animales fueron sometidos a una prueba para evaluar la recuperación del aprendizaje espacial. La prueba consistió en un ensayo igual a los ensayos realizados durante el entrenamiento (prueba con caja – PCC). Una vez finalizada la sesión las ratas fueron devueltas a su caja hogar.

#### *Día 4. Tratamiento Farmacológico y Entrenamiento*

Veinticuatro horas después de la sesión de recuperación, los animales de dos de los grupos experimentales recibieron una microinyección de Anisomicina en uno de sus ventrículos laterales, mientras que los animales de los otros dos grupos recibieron el mismo volumen de solución salina. De los animales inyectados con Anisomicina, un grupo fue sometido a extinción, mientras que el otro grupo permaneció en su caja hogar. Así mismo, de los animales inyectados con solución salina un grupo recibió extinción, y el otro permaneció en la caja hogar.

El protocolo de extinción supuso poner a los animales en el contexto del aprendizaje, pero se retiró la caja de escape del agujero meta. Se realizaron ocho ensayos donde los animales permanecieron durante cuatro minutos en el laberinto sin posibilidad de escape. Al igual que en la fase de adquisición se utilizó un intervalo inter-ensayos de cuatro minutos. Al finalizar la sesión los animales fueron devueltos a su caja hogar.

#### *Día 5. Prueba Post-tratamiento*

Transcurridas 24 horas del tratamiento experimental, las ratas fueron expuestas al laberinto en ausencia de la caja de escape (prueba post-tratamiento – PTT). Este ensayo fue idéntico a los ensayos de extinción previamente descritos.

Al finalizar el protocolo de entrenamiento y evaluación los animales fueron llevados al Laboratorio de Neurofisiología donde se les realizó perfusión intracardiaca (previa anestesia profunda con hidrato de cloral 600 mg/kg) y se les extrajo el cerebro con el fin de realizar la verificación histológica del lugar de implantación de la cánula. Se eliminaron del experimento aquellos animales que tenían la cánula implantada en un lugar distinto al ventrículo lateral.

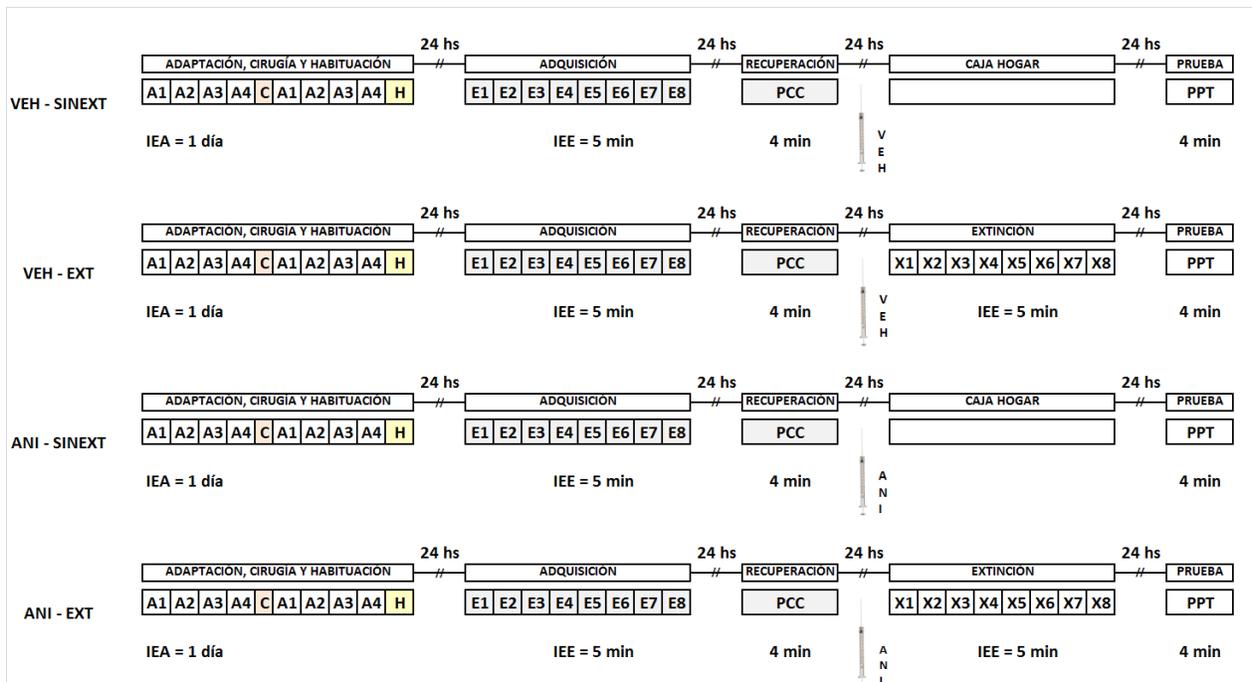
### Consideraciones Éticas

Las condiciones de alojamiento, la totalidad de los procedimientos experimentales y la disposición de los residuos biológicos y químicos se realizaron observando las normativas nacionales e internacionales pertinentes: Resolución n° 008430 de 1993 del Ministerio de Salud y Ley 84 del 27 de diciembre de 1989; también se observaron los procedimientos para el manejo y cuidado de animales de laboratorio recomendados por la normativa de la Unión Europea (8616091EU) y los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América (National Research Council, 1996). Con respecto a la aplicación de las normas anteriormente citadas, cabe hacer las siguientes aclaraciones: (1) Todo el personal encargado del cuidado y manejo de los animales de experimentación contaron con formación específica certificada. (2) Los animales que fueron sometidos a experimentos potencialmente dolorosos recibieron anestesia quirúrgica. (3) Al final de los procedimientos de evaluación comportamental, los animales fueron sacrificados, previa aplicación de una sobredosis de anestésico. (4) Para garantizar la seguridad de los investigadores, la manipulación de los residuos contaminados producidos por este estudio se utilizaron batas y gorros desechables, guantes de látex, tapabocas, y gafas de protección. (5) Para impedir la contaminación ambiental con elementos potencialmente tóxicos los residuos químicos y los materiales desechables utilizados para la inyección fueron depositados en contenedores adecuados. (6) Los cadáveres de los animales utilizados en esta investigación fueron incinerados en el complejo de Ciencias de la Producción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional. (7) La Unidad de Recursos Físicos de la Universidad Nacional de Colombia, a través del programa UN Ambiente, se hizo cargo de la disposición definitiva de los desechos orgánicos y químicos producidos en el presente proyecto.

Tipo de Investigación y Diseño

La presente investigación es de tipo experimental. Se llevó a cabo mediante un diseño factorial 2 X 2 en donde las variables independientes fueron el tratamiento farmacológico (Anisomicina/Vehículo) y el procedimiento de entrenamiento (Extinción/SinExtinción). En la Figura 2 aparece descrito el diseño experimental y protocolo utilizados:

		TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO	
		VEHÍCULO	ANISOMICINA
ENTRENAMIENTO	SIN-EXTINCIÓN	N = 8	N = 8
	EXTINCIÓN	N = 7	N = 5



**Figura 2.** Diseño experimental y procedimiento. Se generaron cuatro grupos experimentales, cada uno con distinto tratamiento tanto farmacológico y entrenamiento.

Las variables dependientes evaluadas durante la fase de adquisición y la prueba de recuperación (PCC) fueron:

- Latencia a Meta: Tiempo en segundos que el animal tarda en entrar a la caja de escape emplazada en el agujero meta.
- Latencia de inicio: Tiempo en segundos que el animal tarda en explorar por primera vez algún agujero del laberinto durante el ensayo.

- Errores ponderados: Total de errores ponderados por su distancia al agujero meta. Se cuentan las exploraciones, entendidas como inflexiones de cabeza del animal sobre cualquier agujero distinto a la meta y cada una se multiplica por su distancia en centímetros a la meta.
- Distancia Total: Es la longitud de la trayectoria entre agujeros explorados. Para esta medición se convierte la ubicación de los agujeros en el laberinto en coordenadas polares tomando como origen el centro de la plataforma y como radio la distancia entre este centro y el centro de los agujeros. De esta forma, cada agujero corresponde a un punto con coordenadas polares únicas.
- Distancia media: Es el promedio de longitud de la trayectoria entre agujeros explorados. Para esta medición se toma la distancia total dividida entre el número de agujeros explorados. Esta variable da información acerca de que tan cercana al azar es la exploración que realiza el animal durante el ensayo.
- Velocidad Media: Calculada a partir de la distancia total recorrida dividida por la latencia de escape.

En la fase de extinción y en la prueba post-tratamiento (PTT) se utilizaron variables adicionales para observar la exploración de los agujeros, entre ellas:

- Frecuencia Total de Exploración: Número total de veces en las cuales el animal introdujo su cabeza en cualquiera de los agujeros del laberinto.
- Frecuencia de Exploración del Agujero Meta: Número de veces que el animal introdujo su cabeza en el agujero que tenía emplazada la caja de escape durante la fase de adquisición.
- Porcentaje de Exploración del Agujero Meta: Índice calculado a partir de la división de la Frecuencia de Exploración del Agujero Meta sobre la Frecuencia de Exploración.

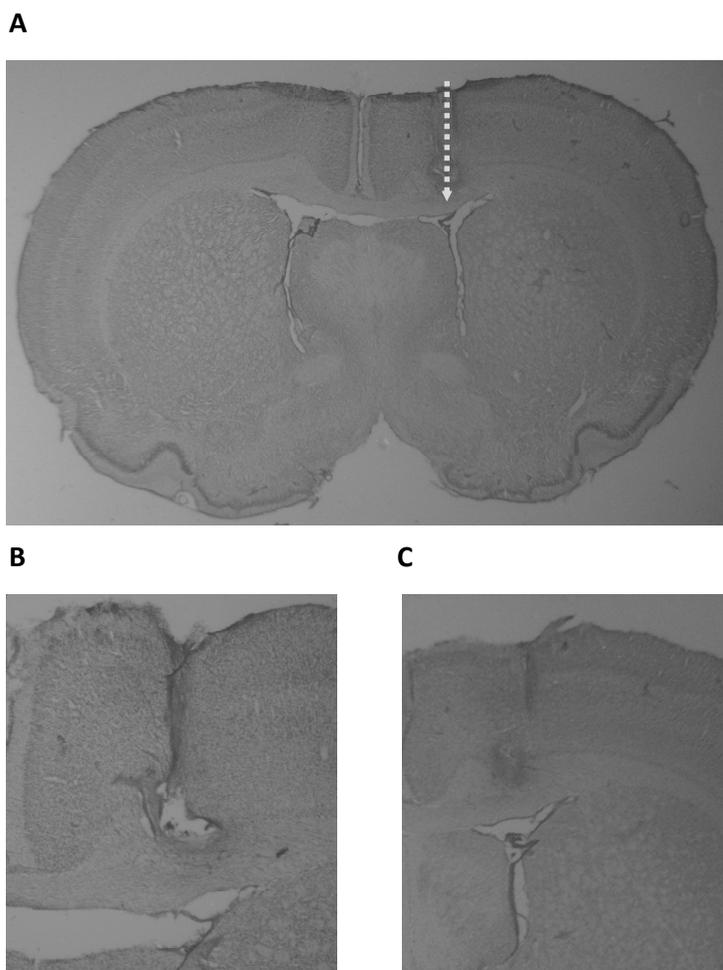
#### Análisis Estadístico

Se realizaron análisis de varianza utilizando procedimientos ANOVA de una vía, dos vías, y de una y dos vías de medidas repetidas, tanto paramétricas como no paramétricas según pasaran o no las pruebas de normalidad e igualdad de varianza, para las comparaciones entre grupos y entre sesiones. Se utilizó como prueba post hoc el método de comparaciones múltiples

Holm-Sidak, Tuckey o Bonferroni, dependiendo de si el análisis fue o no paramétrico. También se hicieron pruebas t-student independientes y pareadas para comparaciones en las pruebas entre grupos e intragrupo y en los casos en que no se cumplió el criterio de normalidad se aplicó la prueba Mann-Whitney para muestras pareadas. Para la realización de estos análisis se utilizó el programa estadístico SIGMASTAT 3.5. Las tablas y gráficas fueron realizadas en Microsoft® Office Excel 2007 y están representadas en todos los casos como media + SEM (error estándar de la media). Para todas las pruebas se tomó como mínimo un nivel de significancia inferior a 0,05.

## RESULTADOS

Una vez evaluados los animales a lo largo del protocolo de entrenamiento se verificó histológicamente la adecuada implantación de la cánula en uno de los ventrículos laterales de cada uno de los animales. De los 40 animales originalmente incluidos en el experimento sólo 28 cumplieron con el criterio de adecuada implantación de la cánula. La distribución de estos animales en los grupos es presentada en el diseño experimental (Figura 2). En la Figura 3 se presenta un corte de cerebro representativo que muestra la ubicación de las cánulas.



**Figura 3.** Cortes coronales que muestran la ubicación de la cánula sobre el ventrículo lateral. A. Corte coronal a AP 0.20 mm desde bregma. B. Corte coronal a AP -0.30 mm. C. Corte coronal a AP -0.80 mm.

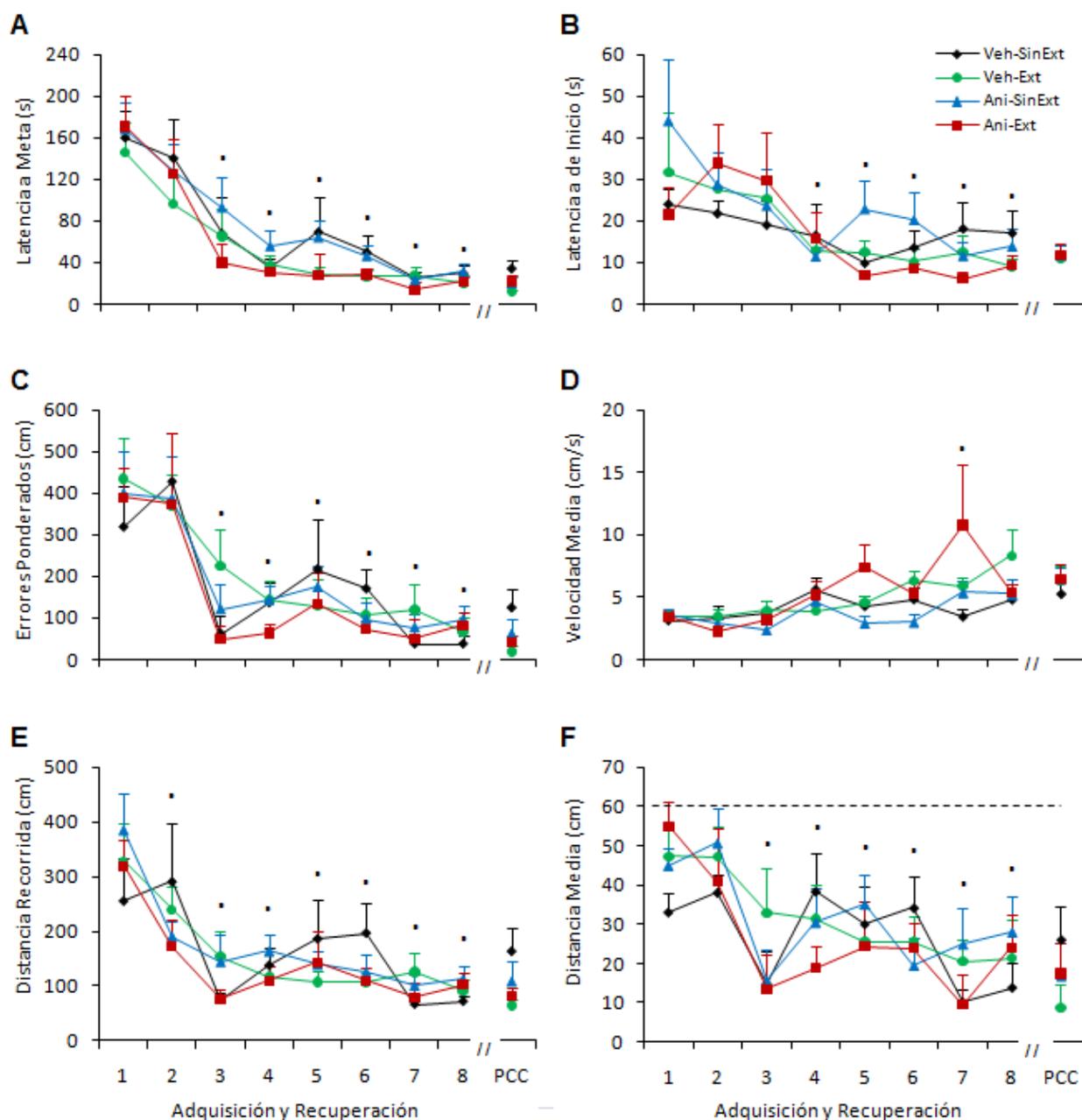
Para los animales finalmente seleccionados se registró y analizó su desempeño en las distintas fases del protocolo a través de diversos indicadores de ejecución.

Inicialmente se compararon los cuatro grupos experimentales durante las fases de adquisición y recuperación con el fin de establecer si eran comparables previo a la fase de tratamiento. En la Figura 4 se presentan los indicadores analizados y se señalan los efectos del entrenamiento a lo largo de la sesión.

En la primera parte de la Figura 4 (parte A) se observa que los animales reducen su latencia de llegada al agujero meta a lo largo de los ensayos de entrenamiento ( $F_{(3,7)} = 22,704$ ,  $p < 0,001$ ) en los cuatro grupos, pero no se encontraron diferencias entre los grupos ( $F_{(3,7)} = 1,075$ ,  $p = 0,356$ ). Los análisis *poshoc* indicaron que el decremento en la latencia con respecto al primer ensayo fue significativo a partir del tercer ensayo y se mantuvo hasta el último ( $p < 0,05$ , ver Anexo 3A). Los animales recuperaron exitosamente lo aprendido el día anterior, al comparar el último ensayo de adquisición con la PCC no se encontraron diferencias entre ellas ( $p > 0,05$ , ver Anexo 3B), ni entre los grupos ( $H_{(3)} = 7,322$ ,  $p = 0,062$ ).

Un resultado similar se observa cuando se analiza la latencia de inicio (Figura 4B), ésta se redujo significativamente a lo largo de los ensayos ( $F_{(3,7)} = 5,631$ ,  $p < 0,001$ ) en todos los grupos ( $F_{(3,7)} = 0,526$ ,  $p = 0,597$ ). Los análisis *poshoc* indicaron que esto ocurre a partir del cuarto ensayo y hasta el último ( $p < 0,05$ , ver Anexo 3C). Al analizar la recuperación (PCC) no se encontraron diferencias entre grupos ( $F_{(3)} = 0,136$ ,  $p = 0,938$ ), como tampoco entre el último ensayo y la prueba para cada grupo ( $p > 0,05$ , ver Anexo 3D).

Cuando se analizan los errores ponderados (Figura 4C) se encuentra igualmente su disminución a lo largo del entrenamiento lo que se explica por el factor ensayo ( $F_{(3,7)} = 13,241$ ,  $p < 0,001$ ), diferencia que alcanza su significancia estadística a partir del tercer ensayo ( $p < 0,05$ , ver Anexo 3E) y se mantiene hasta el octavo ensayo de adquisición; no se encontraron diferencias explicadas por el factor grupo ( $F_{(3,7)} = 0,366$ ,  $p = 0,697$ ), ni por la interacción entre el grupo y los ensayos ( $F_{(3,7)} = 0,144$ ,  $p = 0,999$ ). Tampoco se encontraron diferencias entre grupos para la recuperación ( $H_{(3)} = 5,374$ ,  $p = 0,146$ ), como tampoco entre el último ensayo de adquisición y la PCC ( $p > 0,05$ , ver Anexo 3F).



**Figura 4.** Indicadores de ejecución durante la Adquisición y la Recuperación. A. Latencia a Meta en segundos. B. Latencia de inicio en segundos. C. Errores ponderados en centímetros al agujero meta. D. Velocidad promedio durante los ensayos. E. Distancia recorrida en centímetros. F. Distancia promedio entre agujeros. El punto (.) indica las diferencias entre los ensayos con respecto al primero encontradas para todos los grupos. La línea punteada señala la distancia que se recorrería si se explorara el laberinto al azar. Las barras paralelas en el eje X (//) señalan un lapso de 24 horas.

Al analizar la velocidad promedio a la que los animales exploraron el laberinto a lo largo del entrenamiento (Figura 4D) se encontró un efecto del factor ensayo ( $F_{(3,7)} = 6,222$ ,  $p < 0,001$ ) para todos los grupos, pero no efecto para el factor grupo ( $F_{(3,7)} = 2,355$ ); los análisis *poshoc* mostraron que la diferencia entre ensayos era significativa a partir del sexto ensayo de adquisición y se mantenía hasta el último ( $p < 0,05$ , ver Anexo 3G). No se encontraron diferencias entre los grupos para la prueba de recuperación (PCC  $F_{(3)} = 0,311$ ,  $p = 0,817$ ), como tampoco entre el octavo ensayo y la PCC ( $p > 0,05$ , ver Anexo 3H).

En la Figura 4E se observa que la distancia total recorrida durante los ensayos disminuyó ( $F_{(3,7)} = 17,306$ ,  $p < 0,001$ ), efecto que fue independiente del grupo ( $F_{(3,7)} = 0,839$ ,  $p = 0,444$ ) o de la interacción entre variables ( $F_{(3,7)} = 0,854$ ,  $p = 0,897$ ). Los análisis *poshoc* mostraron que esta disminución se da a partir del segundo ensayo y se mantiene hasta el octavo ( $p < 0,05$ , ver Anexo 3I). Para la prueba de recuperación no se observaron diferencias entre grupos ( $H_{(3)} = 5,257$ ,  $p = 0,154$ ). Tampoco se observaron diferencias entre el último ensayo de adquisición y la PCC en ningún grupo ( $p < 0,05$ , ver Anexo 3J).

Así mismo, cuando se analizan la distancia media o distancia total dividida entre el total de agujeros, se encuentra una disminución a lo largo del entrenamiento explicado por el factor ensayo ( $F_{(3,7)} = 7,653$ ,  $p < 0,001$ ), diferencia que alcanza su significancia estadística a partir del tercer ensayo ( $p < 0,05$ , ver Anexo 3I) y se mantiene hasta el octavo ensayo de adquisición (Figura 4F); no se encontraron diferencias explicadas por el factor grupo ( $F_{(3,7)} = 0,281$ ,  $p = 0,757$ ), ni por la interacción entre variables ( $F_{(3,7)} = 0,841$ ,  $p = 0,624$ ). No se encontraron diferencias entre grupos para la recuperación ( $H_{(3)} = H = 4,178$ ,  $p = 0,243$ ), como tampoco entre el último ensayo de adquisición y la PCC en todos los grupos ( $p > 0,05$ , ver Anexo 3J).

En conjunto, estos datos muestran que no se presentaron diferencias en el proceso de adquisición y recuperación en los cuatro grupos. Adicionalmente muestran que los animales de los cuatro grupos fueron capaces de recuperar lo aprendido cuando se evaluaron 24 horas después.

Una vez se verificó que no existieron diferencias estadísticas entre los grupos para los parámetros evaluados, se realizaron los análisis para las fases del protocolo donde se trató a los

animales de manera diferencial según se administró el tratamiento farmacológico (Anisomicina/Vehículo) o el tipo de entrenamiento conductual (Extinción/SinExtinción).

Inicialmente se realizó una comparación intragrupo para la latencia de llegada al agujero meta para la prueba de recuperación (PCC) y la prueba post-tratamiento (PPT) y se encontraron diferencias al interior de los grupos. Los resultados se presentan en la tabla 1.

Latencia a Meta								
Grupo	Ani-Ext				Ani-SinExt			
tratamiento	N	Media	DS	Error	N	Media	DS	Error
PCC	5	21,093	13,641	6,1	8	20,296	17,3	6,117
PPT	5	63,586	48,907	21,872	8	130,19	81,498	28,814
Diferencia	5	-42,49	5382%	24,07	8	-109,9	83,834	29,64
t	=-1,765 (P = 0,152)				=-3,707 (P = 0,008)			
Grupo	Veh-Ext				Veh-SinExt			
tratamiento	N	Media	DS	Error	N	Media	DS	Error
PCC	8	12,7	3,58	1,266	7	34,815	17,495	6,612
PPT	8	170,49	85,571	30,254	7	114,26	86,323	32,627
Diferencia	8	-157,8	85,059	30,073	7	-79,45	89,109	33,68
t	=-5,247 (P = 0,001)				=-2,359 (P = 0,056)			

**Tabla 1.** Comparación entre la recuperación (PCC) y la prueba post-tratamiento (PPT). Se analizaron los indicadores de latencia a meta, velocidad media y distancia recorrida. En negrilla se resaltan las diferencias significativas.

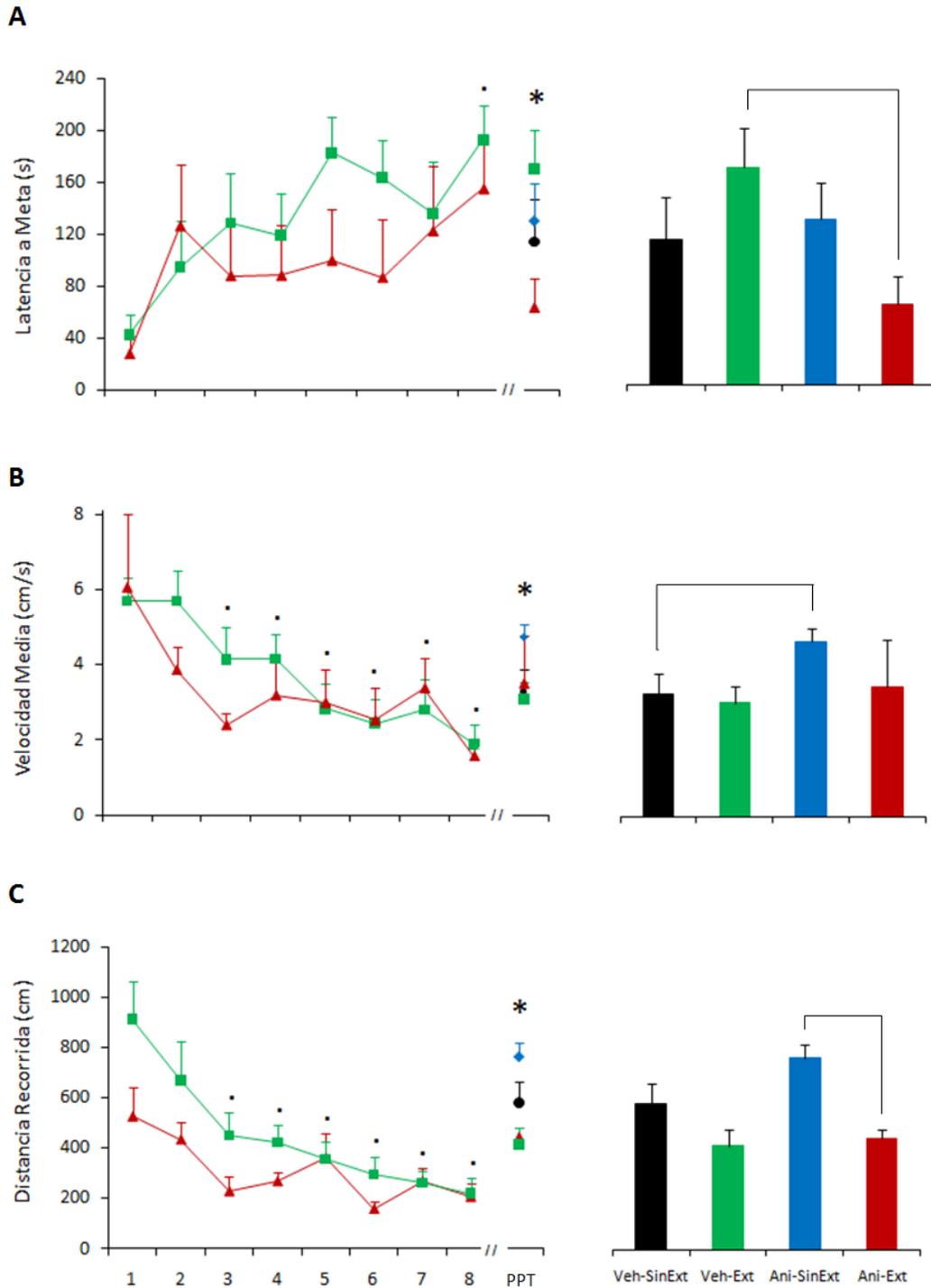
Estos datos indican que el tratamiento con Anisomicina sin Extinción induce un incremento estadísticamente significativo que fue mayor a cien segundos entre la prueba de recuperación y la prueba post-tratamiento realizada 48 horas después, efecto que no se observa en los animales que recibieron vehículo sin extinción. De manera similar se observó un incremento superior a ciento cincuenta segundos en la latencia de llegada al agujero meta para aquellos animales que fueron entrenados en Extinción y sólo recibieron vehículo, efecto que no se observó en los animales entrenados en Extinción y que recibieron Anisomicina. Dado el efecto deletéreo que se observó en los animales tratados con Anisomicina sin Extinción, se comparó la latencia al agujero meta durante la PTT con el primer ensayo de adquisición y no se encontraron diferencias significativas ( $t_{(7)} = 0,716$ ,  $p = 0,497$ ).

Posteriormente se comparó la latencia al agujero meta, la distancia total recorrida y la velocidad promedio entre el último ensayo de extinción y la prueba post-tratamiento (PTT) para

los grupos entrenados en este procedimiento. Así mismo se compararon estos indicadores del recorrido durante la prueba post-tratamiento (PTT) para los cuatro grupos (Figura 5).

En la primera parte de la Figura 5 (parte A) se observa la latencia de llegada al agujero entrenado como meta durante la adquisición. Una prueba Anova de dos vías de medidas repetidas mostró que el factor ensayo explicaba el cambio observado en la curva de extinción ( $F_{(1,7)} = 2,412$ ,  $p = 0,028$ ), el cual fue significativo sólo hasta el octavo ensayo de extinción ( $p = 0,006$ ); no se encontró efecto para el factor grupo durante esta fase ( $F_{(1,7)} = 3,392$ ,  $p = 0,093$ ), ni interacción entre las variables ( $F_{(1,7)} = 0,516$ ,  $p = 0,82$ ). El análisis de la prueba post-tratamiento (PPT) mediante un Anova de una vía no mostró diferencias entre los cuatro grupos ( $F_{(3)} = 1,916$ ,  $p = 0,154$ ); sin embargo, una prueba t mostró diferencias entre los grupos entrenados en Extinción (Anisomicina-Extinción y Vehículo-Extinción) ( $t_{(11)} = -2,522$ ,  $p = 0,028$ ), donde la latencia del grupo tratado con Anisomicina fue significativamente menor, además, se comparó el último ensayo de extinción (E8) con la prueba post-tratamiento (PPT) y no se encontraron diferencias para el grupo tratado con Anisomicina ( $t_{(4)} = 1.770$ ,  $p < 0,151$ ) como tampoco para el tratado con solución salina ( $t_{(7)} = 0.975$ ,  $p = 0,362$ ).

Con relación a la velocidad media, el análisis de varianza indicó que ésta disminuyó a lo largo de los ensayos de extinción ( $F_{(1,7)} = 6,940$ ,  $p < 0,001$ ), pero no se encontró efecto de grupo ( $F_{(1,7)} = 0,386$ ,  $p = 0,547$ ) ni interacción entre las variables ( $F_{(1,7)} = 0,899$ ,  $p = 0,512$ ). En la fase de prueba, un Anova de una vía no mostró diferencias entre los cuatro grupos ( $F_{(3)} = 1,641$ ,  $p = 0,206$ ); sin embargo, una prueba t mostró diferencias entre los grupos de animales que no recibieron extinción (Anisomicina-SinExtinción vs Vehículo-SinExtinción) ( $t_{(13)} = 2,260$ ,  $p = 0,042$ ), siendo mayor la velocidad para el grupo que recibió Anisomicina. Al comparar el último ensayo de extinción (E8) y la prueba post-tratamiento (PPT) no se encontraron diferencias para el grupo tratado con Anisomicina ( $t_{(4)} = -2,175$ ,  $p = 0,095$ ) como tampoco para el tratado con solución salina ( $t_{(7)} = -2,185$ ,  $p = 0,062$ ) (Figura 5B).



**Figura 5.** Indicadores de ejecución durante la extinción y la prueba post-tratamiento (PPT) realizada 24 horas después. A. Latencia a Meta en segundos, B. Velocidad promedio. C. Distancia recorrida en centímetros. A la derecha de cada curva se amplía la ejecución para cada indicador durante la prueba post-tratamiento (PPT). El punto (.) indica las diferencias entre los ensayos con respecto al primero de extinción encontradas para los dos grupos entrenados en este protocolo. Los asteriscos (\*) indican diferencias significativas entre grupos durante la prueba.

De manera similar, al analizar la distancia recorrida con un Anova de dos vías de medidas repetidas se encuentra que el factor ensayo explica el cambio en la curva a partir del tercer ensayo ( $F_{(1,7)} = 18,432$ ,  $p < 0,001$ ), pero no se observaron efectos atribuibles a la variable grupo ( $F_{(1,7)} = 1,857$ ,  $p = 0,200$ ) ni a la interacción entre variables ( $F_{(1,7)} = 2,133$ ,  $p = 0,051$ ). Por el contrario, cuando se comparan los grupos en la fase de prueba (PTT) a través de un Anova de una vía, se encuentran diferencias significativas ( $F_{(3)} = 6,41$ ,  $p = 0,002$ ) entre los grupos tratados con Anismocina (Anisomicina-SinExtinción y Anisomicina-Extinción) ( $t_{(12)} = 4,058$ ,  $p = 0,009$ ), así como entre los grupos Anisomicina-SinExtinción y el grupo Vehículo-Extinción ( $t_{(14)} = 3,24$ ,  $p = 0,002$ ); en ambos casos fue mayor la velocidad para los animales tratados con Anisomicina; no se encontraron diferencias entre los demás grupos para este indicador durante la prueba (PTT). Sin embargo, al comparar el último ensayo de extinción (E8) y la prueba post-tratamiento (PPT) se encontró que el grupo tratado con Anisomicina durante la extinción recorrió una menor distancia en el octavo ensayo de extinción que en la prueba post-tratamiento ( $t_{(4)} = -5,959$ ,  $p = 0,004$ ), lo cual no ocurrió para aquellos animales tratados con solución salina ( $t_{(7)} = -2,335$ ,  $p = 0,052$ ) (Figura 5C).

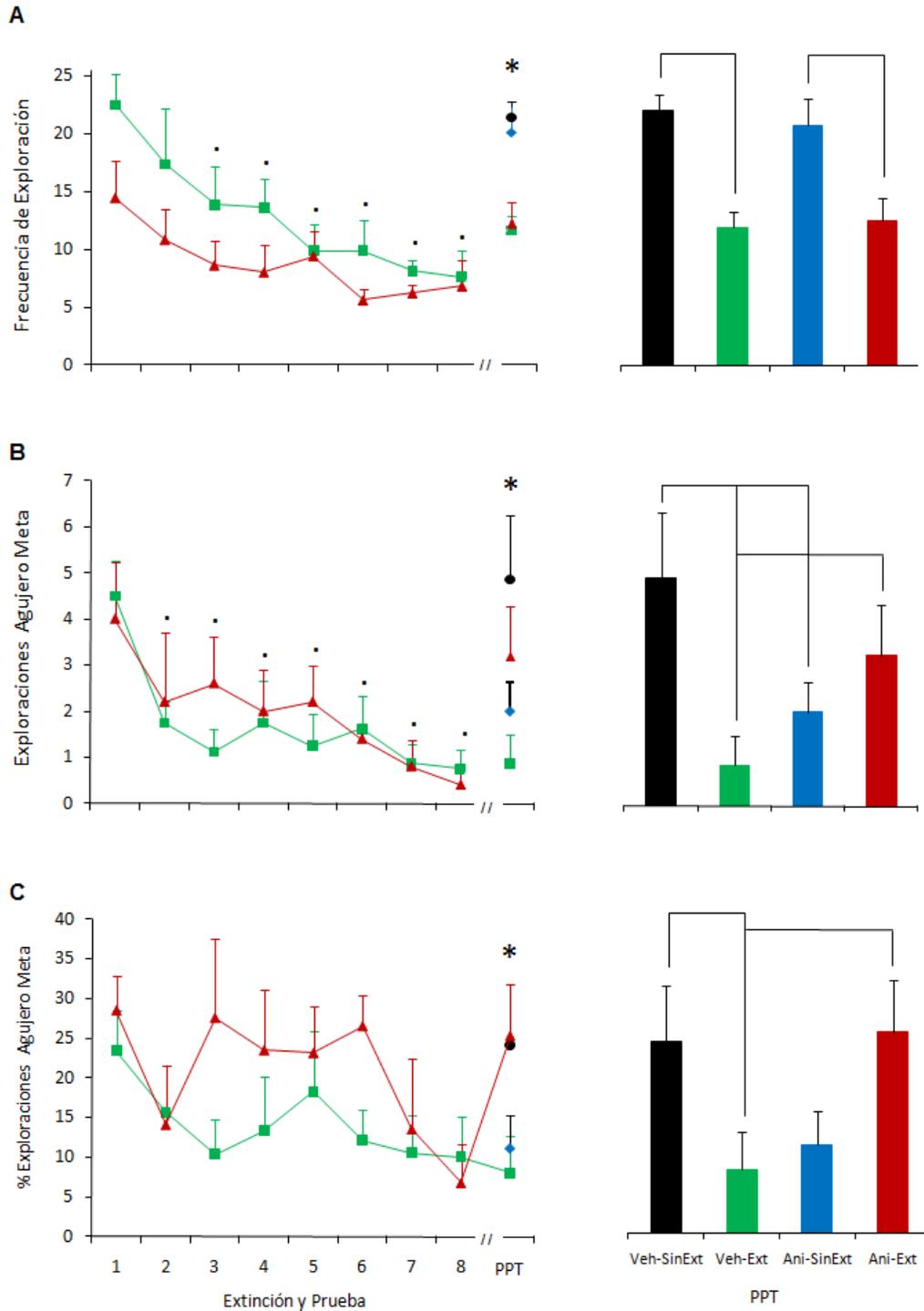
Además de indicadores de recorrido se analizó el patrón de exploración de los agujeros teniendo en cuenta la frecuencia total de exploración, la frecuencia de exploración del agujero que fue entrenado como meta y el porcentaje de exploración del agujero meta. Estos análisis, al igual que los anteriores, se realizaron tanto para la fase de extinción como para la prueba post-tratamiento. En la Figura 6 se presentan los hallazgos.

Un análisis de varianza para las variables Grupo y Ensayos durante la extinción mostró una reducción progresiva de la frecuencia de exploración a lo largo de los ensayos ( $F_{(1,7)} = 8,508$ ,  $p < 0,001$ ), que fue significativa a partir del tercer ensayo ( $p = 0,002$ ); dicho cambio no se relacionó con la variable grupo ( $F_{(1,7)} = 1,664$ ,  $p = 0,24$ ), ni se explicó por una interacción entre las variables ( $F_{(1,7)} = 1,089$ ,  $p = 0,379$ ). Por su parte al comparar los grupos durante la prueba post-tratamiento (PTT) mediante un Anova de dos vías con factores Tratamiento Farmacológico (Anisomicina/Vehículo) y Entrenamiento (Extinción/Sin-Extinción), se encontraron efectos relacionados con la variable Entrenamiento ( $F_{(1,1)} = 25,587$ ,  $p < 0,001$ ), pero no relacionados con la aplicación del fármaco ( $F_{(1,1)} = 0,0432$ ,  $p = 0,873$ ) ni explicados por la interacción entre las

variables ( $F_{(1,1)} = 0,287$ ,  $p = 0,597$ ). Los análisis *poshoc* mostraron que los animales que recibieron Extinción presentaron una exploración total inferior a aquellos animales que no recibieron este tratamiento ( $t_{(27)} = 5,058$ ,  $p < 0,001$ ) (Figura 6A).

De otro lado, al comparar la exploración del agujero meta a lo largo del proceso de extinción se encontró una reducción progresiva a lo largo de los ensayos de las visitas al agujero que antes tenía emplazada la caja de escape ( $F_{(1,7)} = 4,775$ ,  $p < 0,001$ ), la cual fue significativa a partir del segundo ensayo  $p = 0,002$ ; dicho cambio no se relacionó con la variable grupo ( $F_{(1,7)} = 0,239$ ,  $p = 0,635$ ) ni con la interacción entre las variables ( $F_{(1,7)} = 0,458$ ,  $p = 0,861$ ). Con relación a la prueba post-tratamiento (PTT) una prueba Anova de dos vías con Factores Tratamiento Farmacológico y Entrenamiento encontró diferencias relacionadas con la interacción de los factores ( $F_{(1,1)}=7,419$ ,  $p=0,012$ ); los análisis *poshoc* revelaron diferencias entre los grupos Vehículo-Extinción vs Vehículo-SinExtinción ( $t_{(14)} = 3,114$ ,  $p = 0,005$ ) y Vehículo-SinExtinción vs Anisomicina-SinExtinción, ( $t_{(14)} = 2,234$ ,  $p= 0,035$ ); así mismo , la prueba no paramétrica de Mann-Whitney mostró diferencias entre los grupos Anisomicina-Extinción vs Vehículo-Extinción ( $T_{(12)}=50,000$ ,  $p = 0,030$ ), (Figura 6B).

También se analizó el porcentaje de exploración del agujero meta durante la extinción y la prueba (PTT). No se encontraron efectos durante la extinción asociados a la variable ensayo ( $F_{(1,7)} = 1,772$ ,  $p = 0,105$ ) o para la variable grupo ( $F_{(1,7)} = 1,881$ ,  $p = 0,198$ ), como tampoco para la interacción entre las variables ( $F_{(1,7)} = 0,785$ ,  $p = 0,602$ ). Sin embargo, durante la prueba (PTT) una prueba Anova de dos vías reveló efectos relacionados con la interacción entre los Factores de Tratamiento Farmacológico y Entrenamiento ( $F_{(1,1)} = 7,215$ ,  $p = 0,013$ ), pero no para cada factor por separado ( $F_{(1,1)} = 0,143$ ,  $p = 0,709$ ) y ( $F_{(1,1)} = 0,0323$ ,  $p = 0,859$ ). Los análisis *poshoc* indicaron diferencias entre los grupos Vehículo-Extinción vs Vehículo-SinExtinción, ( $t_{(14)} = 2,132$ ,  $p = 0,043$ ), así como entre Vehículo-Extinción vs Anisomicina-Extinción, ( $t_{(12)} = 2,069$ ,  $p = 0,049$ ) (Figura 6C).



**Figura 6.** Indicadores globales de exploración durante la extinción y la prueba post-tratamiento. A. Frecuencia Total de Exploración. B. Frecuencia de Exploración del Agujero Meta. C. Porcentaje de Exploración del Agujero Meta. A la derecha se amplía la ejecución para cada indicador durante la prueba post-tratamiento (PPT). El punto (.) indica las diferencias entre los ensayos con respecto al primero de extinción encontradas para los dos grupos entrenados en este protocolo. Los asteriscos (\*) indican diferencias significativas entre grupos durante la prueba.

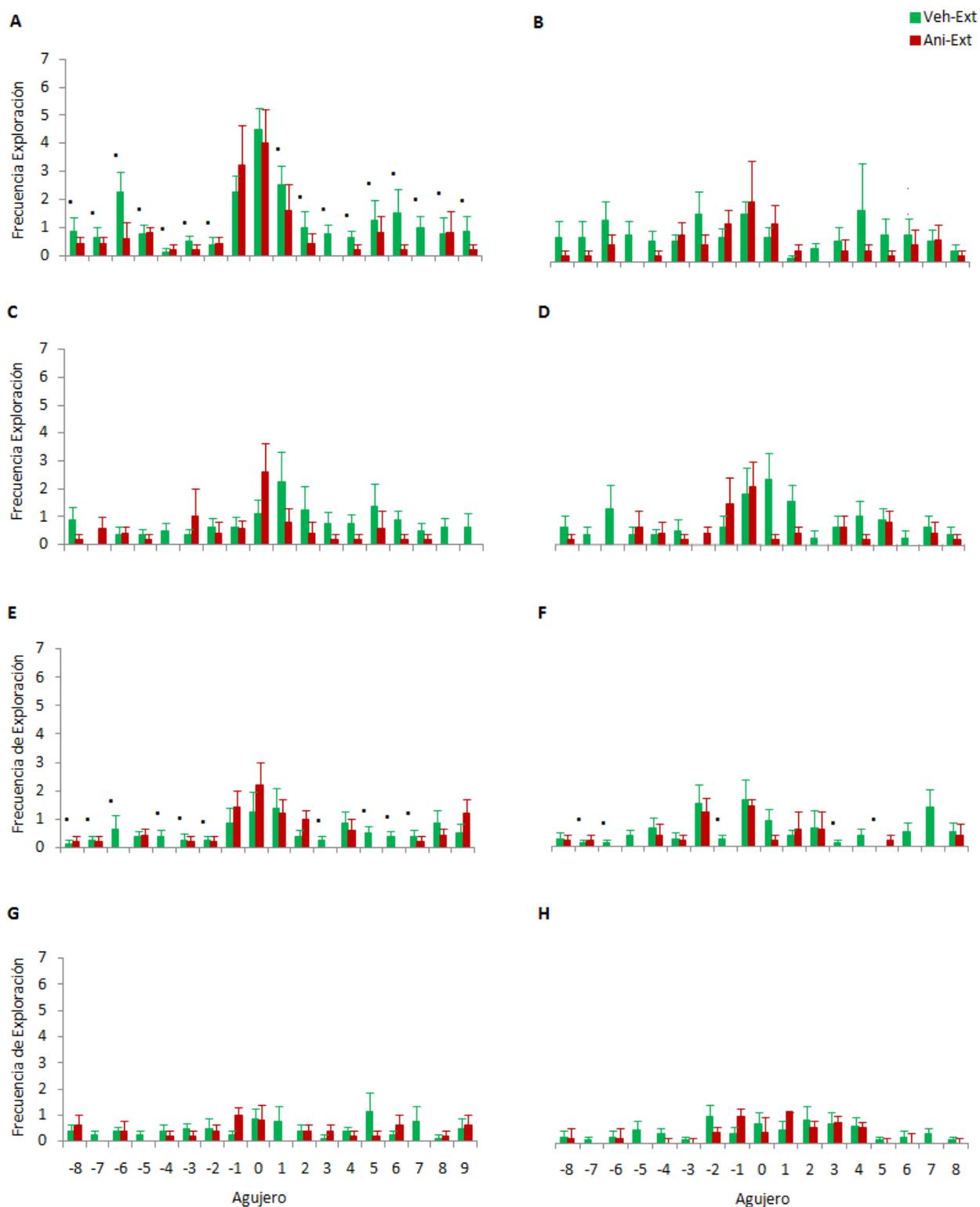
Adicionalmente se realizaron análisis para comparar la exploración de cada uno de los agujeros del laberinto a lo largo de la extinción y durante la prueba para cada uno de los grupos. En la Figura 7 se presenta el análisis para los dos grupos sometidos a entrenamiento en Extinción, mientras que en la Figura 8 se presenta la exploración de los agujeros para los cuatro grupos durante la prueba post tratamiento (PPT).

Para la exploración de los distintos agujeros del laberinto durante el primer ensayo de extinción una Anova de dos vías con factores de grupo y agujero como medida repetida indicó que la exploración de los agujeros fue diferente ( $F_{(1,17)} = 6,433$ ,  $p < 0,001$ ) y que el grupo tratado con Anisomicina exploró con menor frecuencia todos los agujeros en comparación con el grupo Vehículo ( $F_{(1,17)} = 5,115$ ,  $p = 0,045$ ) pero no se presentaron interacciones entre las variables ( $F_{(1,17)} = 0,682$ ,  $p = 0,818$ ) por lo que la distribución de la exploración de los agujeros para ambos grupos fue semejante. Los análisis *poshoc* indicaron diferencias entre el agujero 0 (meta) con respecto a todos los agujeros adyacentes excluyendo el agujero -1, para ambos grupos ( $p < 0,001$ ). En la Figura 7A se indica con un punto los agujeros explorados en menor frecuencia que el agujero meta.

En el segundo ensayo el análisis de la exploración de los agujeros no mostró diferencias entre grupos ( $F_{(1,17)} = 1,731$ ,  $p = 0,215$ ), como tampoco entre agujeros ( $F_{(1,17)} = 0,978$ ,  $p = 0,484$ ), ni interacción entre las variables ( $F_{(1,17)} = 0,655$ ,  $p = 0,844$ ). En la Figura 7B se representa la exploración de los agujeros para ambos grupos.

De forma semejante, en el tercer ensayo de extinción no se observaron diferencias entre los agujeros ( $F_{(1,17)} = 1,632$ ,  $p = 0,06$ ), ni entre los grupos ( $F_{(1,17)} = 1,315$ ,  $p = 0,276$ ), como tampoco interacción entre las variables ( $F_{(1,17)} = 0,973$ ,  $p = 0,532$ ). En la Figura 7C se representa la exploración de los agujeros durante el ensayo para ambos grupos.

Por el contrario, cuando se analizó el cuarto ensayo de extinción se encontró de nuevo una exploración preferente por el agujero 0 (meta) en comparación con algunos agujeros del laberinto ( $F_{(1,17)} = 1,693$ ,  $p = 0,047$ ), sin embargo, los análisis *poshoc* no revelaron diferencias específicas entre agujeros; tampoco se observaron diferencias entre los grupos ( $F_{(1,17)} = 2,289$ ,  $p = 0,158$ ) ni interacción entre las variables ( $F_{(1,17)} = 0,913$ ,  $p = 0,559$ ). La exploración durante este ensayo se representa en la Figura 7D.



**Figura 7.** Indicadores de Exploración por Agujero durante la Extinción. El agujero 0 corresponde al agujero entrenado como meta. A. Ensayo 1. B. ensayo 2. C. ensayo 3. D. ensayo 4. E. ensayo 5. F. ensayo 6. G. ensayo 7. H. ensayo 8. El punto (.) indica las diferencias entre los agujeros con respecto al agujero 0 (meta).

El análisis del quinto ensayo de extinción indicó una preferencia por el agujero 0 con respecto a otros ( $F_{(1,7)} = 3,05$ ,  $p < 0,001$ ), pero no efecto diferencial atribuible al grupo ( $F_{(1,17)} = 0,0203$ ,  $p = 0,889$ ), como tampoco interacción entre las variables ( $F_{(1,17)} = 0,728$ ,  $p = 0,772$ ). En la Figura 7F se representan la exploración de los agujeros y se indica con un punto aquellos que difirieron del agujero meta con una ( $p < 0,05$ ).

El análisis del sexto ensayo de extinción también reveló una preferencia por la exploración del agujero 0 ( $F_{(1,7)} = 2,581$ ,  $p < 0,001$ ), pero no diferencias en la exploración entre grupos ( $F_{(1,17)} = 1,501$ ,  $p = 0,246$ ), ni interacción entre las variables ( $F_{(1,17)} = 0,500$ ,  $p = 0,951$ ). En la Figura 7G se presenta el patrón de exploración y se indican las diferencias significativas con respecto al agujero meta con una  $p < 0,05$ .

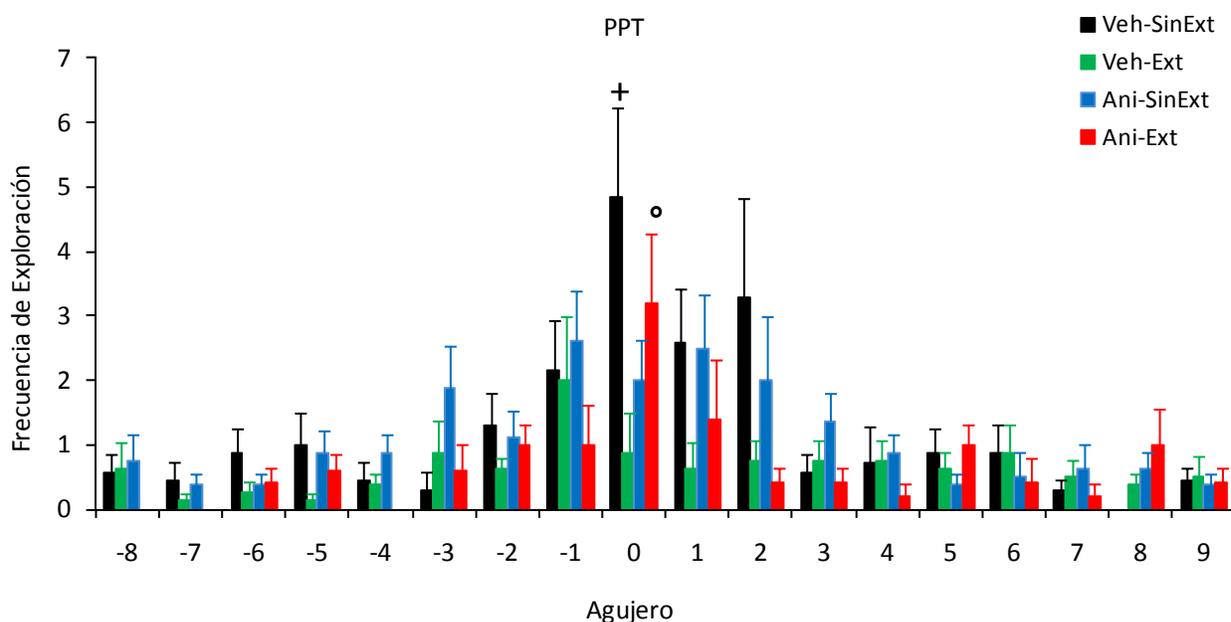
En el séptimo ensayo de extinción el análisis de varianza no reveló diferencias entre agujeros ( $F_{(1,17)} = 0,550$ ,  $p = 0,924$ ), grupos ( $F_{(1,17)} = 2,102$ ,  $p = 0,175$ ), o efecto de interacción entre las variables ( $F_{(1,17)} = 0,663$ ,  $p = 0,836$ ). En la Figura 7F se representa la exploración para este ensayo.

Para el octavo ensayo de extinción el análisis de varianza reveló diferencias entre los agujeros ( $F_{(1,17)} = 1,728$ ,  $p = 0,041$ ), sin embargo, los análisis *poshoc* no mostraron diferencias específicas. No se encontraron diferencias entre los grupos ( $F_{(1,17)} = 0,059$ ,  $p = 0,811$ ), ni interacción entre las variables ( $F_{(1,17)} = 0,919$ ,  $p = 0,552$ ). En la Figura 7H se representa la exploración para este ensayo. En la Figura 7H se representa la exploración para este ensayo.

Estos resultados indican que los animales de ambos grupos exhiben al inicio del entrenamiento una preferencia por explorar el agujero que fue entrenado como meta, aunque para este primer ensayo los animales tratados con Anisomicina tuvieron una menor frecuencia de exploración de todos los agujeros, efecto que no se observó en ningún ensayo posterior.

De otro lado, se observaron cambios en la preferencia del agujero a lo largo del entrenamiento en extinción, encontrándose que después del primer ensayo la preferencia desapareció para los ensayos 2, 3 y 4, reapareció para los ensayos 5 y 6, y finalmente desapareció para los ensayos 7 y 8, en donde ya no se encontró preferencia clara por el agujero meta.

Finalmente se analizó el patrón de exploración de los animales 24 horas después del entrenamiento en Extinción o 48 horas después de la recuperación para aquellos animales que no tuvieron extinción y en vez de ello permanecieron en su caja-hogar. Se comparó el patrón de exploración de los cuatro grupos en la prueba post-tratamiento mediante una Anova de dos vías con los mismos factores descritos para las pruebas anteriores. Los resultados se presentan en la Figura 8. Se encontró un efecto para el factor grupo ( $F_{(3,17)} = 8,968$ ,  $p < 0,001$ ), indicando diferencias entre los mismos. Los análisis *poshoc* revelaron patrones de exploración diferentes entre los animales de los grupos Vehículo-SinExtinción vs. Vehículo-Extinción, ( $t_{(14)} = 4,161$ ,  $p < 0,001$ ), así como al comparar los animales de los grupos Anisomicina-Extinción vs. Anisomicina-SinExtinción, ( $t_{(12)} = 3,054$ ,  $p = 0,005$ ). En la Figura 8 se presenta la exploración de los cuatro grupos y se señalan las diferencias encontradas.



**Figura 8.** Exploración de los agujeros para los cuatro grupos experimentales durante la prueba post-tratamiento. El agujero 0 corresponde al agujero entrenado como meta. La cruz (+) señala las diferencias entre los grupos Vehículo-SinExtinción vs. Vehículo-Extinción. El círculo (°) señala las diferencias entre los grupos Anisomicina-Extinción vs. Anisomicina-SinExtinción.

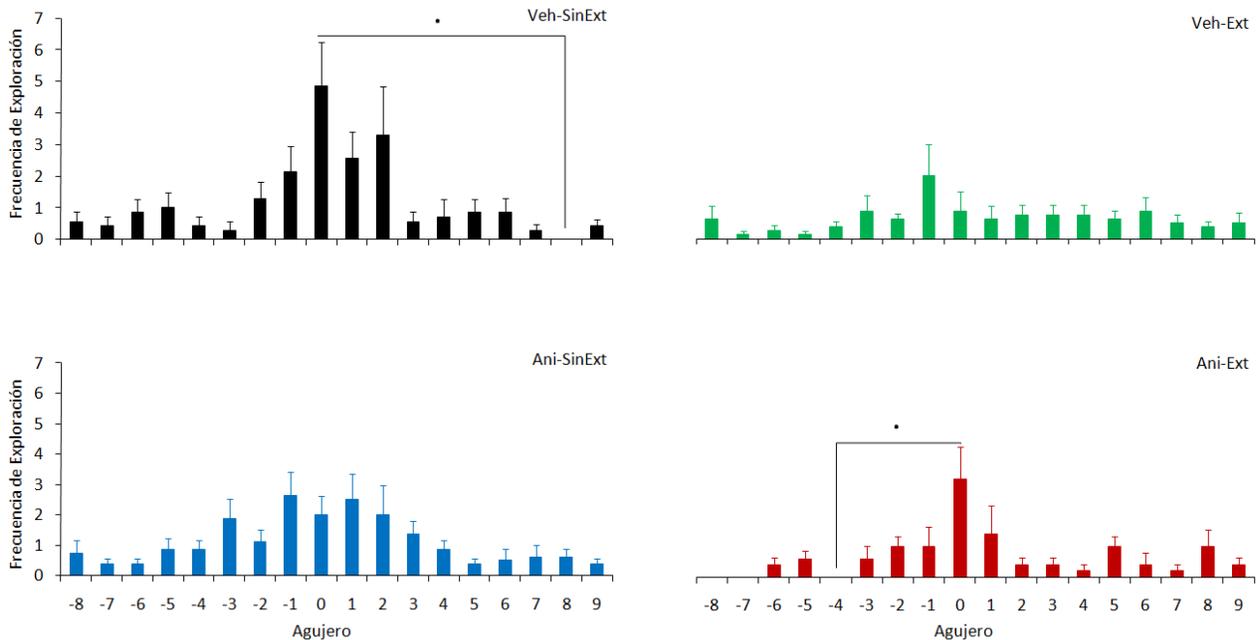
Adicionalmente se analizaron las diferencias en la exploración de los agujeros para cada uno de los grupos de manera separada a través de pruebas Anova de una vía para medidas repetidas. La exploración de cada grupo por separado se presenta en la Figura 9.

El análisis para el grupo Anisomicina-Extinción reveló diferencias en la preferencia de exploración de los agujeros ( $X_{(17)} = 31,082$ ,  $p = 0,020$ ). Para el análisis *poshoc* se utilizó la prueba de Tukey, la cual reveló diferencias entre el agujero 0 y el agujero -4 con una ( $p < 0,05$ ). En la Figura 9A se observa la exploración de los agujeros para este grupo.

Utilizando este mismo procedimiento se encontró una diferencia en la preferencia de exploración ( $X_{(17)} = 30,933$ ,  $p = 0,020$ ) para el grupo Anisomicina-SinExtinción, pero para un agujero diferente al meta (-1 vs 6) ( $p < 0,05$ ). En la Figura 9B se observa la exploración de los agujeros para este grupo.

No se encontró ninguna preferencia de agujero para el grupo Vehículo-Extinción ( $X_{(17)} = 10,777$ ,  $p = 0,868$ ). La distribución de la frecuencia de exploración de los agujeros se presenta en la Figura 9C.

El análisis para el grupo Vehículo-SinExtinción encontró diferencias en la exploración entre los agujeros ( $X_{(17)} = 37,904$ ,  $p = 0,003$ ). El análisis *poshoc* reveló diferencias entre el agujero 0 y el agujero 8 con una ( $p < 0,05$ ). En la Figura 9D se observa la exploración de los agujeros para este grupo.



**Figura 9.** Distribución de la frecuencia de exploración de los agujeros durante la prueba post-tratamiento (PTT) para cada uno de los grupos experimentales. El punto (.) indica diferencias significativas con respecto al agujero 0 (meta).

Estos resultados indican que según el tratamiento experimental recibido, los animales presentaron patrones de exploración diferentes. Así, los animales tratados con vehículo sin extinción y los tratados con Anisomicina y extinción presentaron patrones de exploración semejantes, exhibiendo aún preferencia por el agujero meta, mientras que los tratados con vehículo y extinción y los tratados con Anisomicina sin extinción mostraron un patrón de exploración donde no se observó preferencia por ninguno de los agujeros del laberinto.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

A continuación se resumen los principales resultados obtenidos en la presente investigación. Los resultados demuestran la efectividad del protocolo implementado en el estudio, así como los efectos causados por el tratamiento farmacológico y el entrenamiento en Extinción.

En primer lugar se verificó que el protocolo fuera efectivo en términos de la adquisición, recuperación y extinción del aprendizaje espacial y que no existieran diferencias entre los grupos antes del tratamiento. En este sentido encontramos que:

- Los animales entrenados en el protocolo de adquisición, utilizado en este experimento, presentan una reducción progresiva en las latencias de inicio y de llegada al agujero meta, así como en el número de errores ponderados por la cercanía o distancia del agujero meta y en la distancia recorrida a lo largo del entrenamiento.
- La reducción en los indicadores evaluados se mantuvo 24 horas después del entrenamiento indicando una exitosa adquisición y recuperación de la tarea de aprendizaje espacial para todos los grupos.
- Los grupos no mostraron diferencias entre sí en la fase de adquisición ni en la fase de recuperación, siendo comparables en los indicadores evaluados antes del tratamiento experimental.
- El protocolo de Extinción fue efectivo para los dos grupos que recibieron este entrenamiento aún cuando recibieron tratamiento farmacológico distinto (Anisomicina o Vehículo). Se observó en ambos grupos un incremento en la latencia de llegada al agujero entrenado como meta y un decremento progresivo en la velocidad de desplazamiento, la distancia total recorrida, la frecuencia total de exploración de agujeros y el porcentaje y frecuencia total de exploración del agujero donde antes se encontraba la meta.
- Un análisis detallado de la exploración de los 18 agujeros del laberinto a lo largo de los ocho ensayos de extinción muestra que los animales de ambos grupos exhiben una marcada preferencia inicial por el agujero que fue entrenado como meta, preferencia que no se observa durante el segundo, tercer y cuarto ensayo de entrenamiento, y que reaparecer en el quinto y sexto ensayo para finalmente desaparecer en el séptimo y octavo ensayo de

extinción. Sin embargo es importante notar que aún cuando la reducción en la preferencia por el agujero meta fue igual para los dos grupos durante la extinción, se observó una diferencia inicial en la exploración del total de los agujeros durante el primer ensayo. El grupo tratado con Anisomicina tuvo una menor frecuencia de exploración que el grupo tratado con Vehículo durante el primer ensayo. Esta fue la única diferencia encontrada entre los grupos durante el entrenamiento en Extinción.

Verificada la efectividad del protocolo se presentan los hallazgos relacionados con los indicadores del recorrido de los animales en el laberinto (latencia al agujero entrenado como meta, velocidad promedio y distancia recorrida) atribuibles al tratamiento farmacológico y al entrenamiento en extinción. En este sentido encontramos que:

- Los animales del grupo que recibieron vehículo y permanecieron en su caja hogar no presentaron diferencias en latencia de llegada al agujero meta al comparar la prueba de recuperación (PCC) y la prueba post-tratamiento (PTT) realizada 48 horas después, indicando que aún después de dos días de la evaluación del aprendizaje los animales son capaces de recuperar lo aprendido.
- Los animales del grupo que recibieron Anisomicina y permanecieron en su caja-hogar mostraron una mayor latencia de llegada al agujero meta en la PTT que durante la PCC; además la latencia de llegada al agujero meta durante la PTT no fue diferente de la latencia durante el primer ensayo de adquisición. Adicionalmente, este grupo mostró un incremento en la distancia recorrida y la velocidad cuando se comparó con el grupo tratado con vehículo. Estos dos últimos indicadores pueden reflejar un compromiso no solo en la memoria sino en la motricidad, por lo que los indicadores de exploración pueden aportar datos que permitan aclarar este aspecto.
- Los animales del grupo que fueron entrenados en Extinción después de la inyección con Vehículo mostraron una mayor latencia de llegada al agujero meta tanto durante el octavo ensayo de extinción como durante la PTT cuando se compararon con la PCC. Estos resultados indican que el entrenamiento en Extinción implicó un incremento en la latencia al agujero meta que se mantuvo veinticuatro horas después cuando se evaluó la recuperación de la extinción en la PTT.

- Los animales entrenados en Extinción bajo los efectos de la Anisomicina mostraron un incremento en la latencia al agujero meta durante el entrenamiento que sin embargo no se mantuvo veinticuatro horas después en la prueba post-tratamiento (PTT), además no se encontraron diferencias significativas en la prueba de recuperación (PCC) y en la prueba post-tratamiento (PTT), lo que indica un efecto deletéreo del tratamiento farmacológico sobre la consolidación de la extinción. En esta misma dirección se encuentra el hecho de que el grupo tratado con Anisomicina entrenado en Extinción difiriera en este indicador durante la PTT, pero no de los otros grupos. Estos resultados indican que el tratamiento farmacológico con Anisomicina revirtió los efectos del entrenamiento en extinción en la latencia de llegada al agujero previamente entrenado como meta.

A continuación se presentan los hallazgos relacionados con los indicadores de exploración de los agujeros del laberinto (frecuencia total de exploración, frecuencia de exploración del agujero entrenado como meta y porcentaje de exploración del agujero meta).

- El análisis de la frecuencia total de exploración durante la prueba post-tratamiento (PTT) indicó que el tratamiento farmacológico no afecta la exploración de los agujeros del laberinto pero que el entrenamiento en Extinción produce una reducción en la exploración total de los mismos.
- Por el contrario, la exploración específica del agujero entrenado como meta se relaciona con la interacción entre el tratamiento farmacológico y el entrenamiento en Extinción. Los animales que recibieron Vehículo y que permanecieron en su caja-hogar presentan la mayor frecuencia de exploración del agujero meta y no son diferentes de aquellos animales que recibieron Anisomicina previo al entrenamiento en Extinción, sin embargo, difieren de aquellos que recibieron Anisomicina y permanecieron en su caja-hogar así como de aquellos que recibieron Vehículo y entrenamiento en Extinción. Adicionalmente se observa que los animales que recibieron Anisomicina y Extinción tuvieron una mayor frecuencia de exploración que los animales entrenados con Vehículo y que también recibieron Extinción.
- Un resultado similar a este se observó cuando se comparó el porcentaje de exploración del agujero meta (proporción de exploración del agujero meta en relación con los demás agujeros del laberinto). Aquí también se observó una mayor frecuencia de exploración por

parte del grupo tratado con Vehículo sin Extinción sobre el tratado con Vehículo y Extinción, pero no se observaron diferencias entre el tratado con Anisomicina y Extinción, como tampoco con el tratado con Anisomicina sin Extinción. Adicionalmente se observó que el grupo tratado con Anisomicina y Extinción exploró en mayor proporción el agujero meta que el grupo tratado con Vehículo sin Extinción.

De estos resultados se infiere que el entrenamiento en Extinción produce una reducción en la frecuencia total de exploración a corto plazo que se mantiene a largo plazo, siendo independiente de la administración del fármaco Anisomicina. Así mismo, el simple paso del tiempo no reduce la frecuencia total de exploración, efecto que también es independiente de la acción farmacológica de la Anisomicina.

Por el contrario, el efecto específico del fármaco se observa claramente en la frecuencia de exploración del agujero meta y en su porcentaje de exploración. En este sentido, la administración del fármaco antes del inicio del proceso de extinción produjo un deterioro en su recuperación a largo plazo, pues la preferencia por el agujero meta fue mayor para este grupo que para aquel que fue entrenado en Extinción y recibió Vehículo. Adicionalmente se observó que la Anisomicina afectó negativamente la recuperación de la preferencia por el agujero meta, en términos de su frecuencia, para aquellos animales que recibieron el fármaco y permanecieron en su caja-hogar.

Con el fin de identificar con mayor precisión las diferencias en la preferencia en la exploración de los agujeros en cada uno de los grupos durante la prueba post-tratamiento se analizó la distribución de la exploración por agujero y se encontró de manera consistente con los datos previos que:

- Los animales que recibieron Vehículo y permanecieron en su caja hogar centraron su exploración en el agujero meta y adyacentes.
- Los animales que recibieron Vehículo y Extinción no presentaron preferencia por ningún agujero.
- Los animales que recibieron Anisomicina y permanecieron en su caja-hogar no mostraron una preferencia por el agujero meta.

- Los animales que recibieron Anisomicina y Extinción mostraron preferencia por el agujero meta y sus adyacentes.

En conjunto los resultados para los indicadores de exploración apuntan a que la extinción reduce la frecuencia de exploración de todos los agujeros del laberinto y cuando no se aplica el tratamiento farmacológico, elimina la preferencia previamente adquirida por el agujero meta. Por su parte, el tratamiento farmacológico tiene efectos sobre la preferencia de agujero, más no así sobre el patrón total de exploración. Estos efectos comprometen la recuperación de la información adquirida durante el aprendizaje, tanto la información adquirida inicialmente, como aquella adquirida durante el proceso de Extinción. Sin embargo, es de notar que éste experimento aportó evidencia más sólida acerca del efecto farmacológico sobre la consolidación de la memoria del proceso de Extinción, que sobre el compromiso de la consolidación de la información adquirida en la fase inicial del aprendizaje como consecuencia de la administración del fármaco 24 horas después de la recuperación.

Establecidos los principales hallazgos a continuación se discuten posibles explicaciones e implicaciones tanto en el nivel de análisis psicológico como fisiológico.

Se ha afirmado que el aprendizaje espacial comparte diversas características con otros tipos de aprendizaje asociativo (Chamizo, 1990 - 2002), observándose fenómenos tales como inhibición latente, bloqueo, ensombrecimiento y extinción (Lattal & Abel, 2001, Lattal & cols, 2003). En congruencia con estos reportes, el presente estudio mostró que las ratas Wistar macho adultos-jóvenes son capaces de adquirir una preferencia espacial en el Laberinto de Barnes a través de un entrenamiento de ocho ensayos en una única sesión, recuperar esta preferencia 24 horas después, extinguirla 48 horas después a través de un entrenamiento de ocho ensayos en una única sesión y recuperar lo aprendido durante el proceso de extinción 24 horas después de este segundo entrenamiento. En este sentido, se identifica que la preferencia por un lugar en el laberinto de Barnes es susceptible de ser adquirida como consecuencia del refuerzo suministrado una vez que el animal llega a la meta, y que dicha preferencia puede dejar de ser exhibida por el animal como consecuencia de la ausencia del refuerzo en la fase de extinción, estas características son frecuentemente observadas en otros tipos de aprendizaje por condicionamiento, por lo que su explicación puede ser abordada desde

las categorías del análisis experimental del comportamiento, sin tener que recurrir a constructos inferidos tales como mapas cognitivos (Tolman, 1948); así, la explicación se presenta en términos de análisis de las relaciones funcionales entre conducta y organización de los elementos en un campo de estimulación ambiental, postura congruente con la planteada por Restle (1957), Chamizo (2002) y Rodrigo y Prados (2003). En este sentido la conducta del animal de orientarse espacialmente puede ser entendida como un subtipo de aprendizaje discriminativo, donde el animal aprende a desplegar un patrón de conducta que se relaciona funcionalmente con una configuración de estímulos en el ambiente que se presentan de manera simultánea (contexto) y el refuerzo de la conducta de aproximación a un lugar específico del laberinto.

Sin embargo, se ha cuestionado (Gabrielle, 2005) que esta aproximación pueda dar cuenta de aquellos fenómenos relacionados con el aprendizaje espacial en ausencia de refuerzo como lo planteaba Tolman & Honzik en 1930. Alonso, Lombas, Rodríguez y Sanjuán (2003) proponen que el análisis más sencillo de esta cuestión ha sido estudiar los efectos que produce la exposición a estímulos en ausencia de consecuencias. Se sabe que la exposición a estímulos únicos modifican la saliencia del estímulo, tal como ocurre en los fenómenos de habituación y sensibilización y afecta su capacidad asociativa como ocurre en los fenómenos de inhibición latente (Domjan, 1999); sin embargo, en ciertos arreglos, donde se presentan simultáneamente múltiples estímulos en un arreglo complejo, la pre-exposición no reforzada a los mismos aumenta su discriminabilidad, lo que puede facilitar la adquisición de aprendizajes discriminativos que involucren dicho arreglo (Prados, Artigas & Sansa, 2007). Este fenómeno, denominado aprendizaje perceptivo, ha sido estudiado exhaustivamente por Hall (2007, ver para revisión sobre el tema) quien plantea que la facilitación de la adquisición como consecuencia de la exposición previa a los estímulos puede ser también explicada a través de mecanismos asociativos, por lo que aún el aprendizaje latente puede ser explicado sin recurrir a teorías cognitivas o reducirse a explicaciones fisiológicas.

Por otra parte, este estudio demostró que los efectos del entrenamiento en Extinción sobre la preferencia espacial son distintos de aquellos observados como consecuencia del paso del tiempo (olvido), tal como desde temprano lo postuló Skinner (1953). En este sentido, se observó que aquellos animales que no recibieron extinción ni tratamiento farmacológico

mostraron menores latencias al agujero meta y mayor frecuencia de exploración durante la prueba post-tratamiento que aquellos animales entrenados en extinción en ausencia de tratamiento farmacológico. Sin embargo, es importante aclarar que el paso del tiempo tuvo efectos deletéreos sobre la recuperación, observándose que la latencia al agujero meta fue mayor en la prueba post-tratamiento realizada 72 horas después de la adquisición, que durante la prueba de recuperación realizada tan sólo 24 horas después, en el grupo de animales que no recibió extinción ni tratamiento farmacológico. Ahora, si bien estos resultados no permiten establecer si la naturaleza del olvido está dada por la pérdida física de conexiones entre neuronas (Vianna & cols, 2003) o por un efecto de interferencia de otros aprendizajes sobre la adquisición (Anderson & cols., 1994), es importante establecer que es poco probable que los efectos del paso del tiempo observados en este experimento puedan ser explicados por la interferencia de otros aprendizajes, ya que durante el periodo de olvido los animales permanecieron en un contexto conocido y no recibieron ningún tipo de entrenamiento. Futuras investigaciones que comparen grupos de animales entrenados en extinción con aquellos entrenados en protocolos de reversión y con animales no entrenados en estos procedimientos podría aportar evidencia para aclarar este tópico de discusión.

De otro lado, en apoyo a las teorías que postulan que la extinción es un proceso de aprendizaje activo, este experimento mostró que el entrenamiento en extinción no supuso un decremento lineal y sostenido en la preferencia de exploración del agujero entrenado como meta, tal como ocurriría en caso de suponer un proceso opuesto al de la adquisición. Este sentido se observó que a pesar de que los animales dejaban de exhibir la preferencia por el agujero meta después del primer ensayo de extinción, dicha preferencia reaparecía a mitad del entrenamiento, indicando que los cambios ocurridos durante el primer ensayo no son permanentes, tal como ocurriría en caso de que se estuviera eliminando el aprendizaje previo. Esta evidencia es consistente con un amplio número de investigaciones en sobre la extinción en paradigmas tanto de condicionamiento clásico como operante que plantean que la extinción implica alguna modificación sobre las asociaciones ya existentes, o la formación y competencia de nuevas asociaciones, (Rescorla, 1997; Rescorla, 2001; Rescorla, 2004). Sin embargo, se debe tener en cuenta que en la evaluación de la extinción durante la prueba post-tratamiento no se

observó un efecto de recuperación espontánea, lo que posiblemente ocurrió debido al corto lapso temporal entre el entrenamiento en extinción y su evaluación realizada (aspecto que era condición necesaria para establecer efectos de la manipulación experimental que fueron objeto del presente estudio); en este sentido, futuros experimentos podrían establecer posibles efectos de recuperación espontánea al utilizar protocolos con intervalos de tiempo más amplios entre el entrenamiento en extinción y su evaluación.

En conjunto, estos hallazgos, confirman la primera hipótesis formulada en este trabajo, según la cual el proceso de extinción es diferente del olvido que ocurre con el paso del tiempo, siendo la extinción un proceso de aprendizaje activo, que no borra el aprendizaje previo como lo haría el olvido. Sin embargo, estos hallazgos no permiten establecer cuál de los posibles mecanismos postulados para la extinción (Weidemann, 2005) puede ser el responsable del decremento en la preferencia de lugar, por lo que para abordar este aspecto sería necesario diseñar experimentos en los que se tuviera en cuenta aquellos fenómenos post-extinción para establecer la presencia de mecanismos tales como pérdida de asociación entre estímulos, formación de nuevas asociaciones, decremento en la generalización o pérdida no asociativa en los procesos de extinción de preferencias espaciales.

El segundo objetivo de este trabajo fue identificar el papel de la síntesis de proteínas de *novo* en la consolidación de la memoria de la extinción de un aprendizaje espacial en el laberinto circular de Barnes. En torno a esta cuestión, y en general en torno a la investigación de las bases celulares y moleculares que subyacen al proceso de extinción, se ha generado un creciente interés centrado en establecer cuáles de estos mecanismos podrían ser comunes con la adquisición original y cuáles propios del proceso de extinción. Sin embargo, actualmente es poco lo que se sabe acerca de los mecanismos que subyacen a la consolidación de la memoria de extinción de conductas de navegación espacial.

Uno de los primeros reportes de investigación que presentaron evidencia a favor de la participación de la síntesis de proteínas en el aprendizaje espacial fue el presentado por Meiri y Roseblum (1998) utilizando ratas Wistar Macho en el laberinto acuático de Morris. En este trabajo los investigadores evaluaron parámetros tales como en qué momento resultaba efectiva la administración del fármaco, así como cuál era el rango de dosis efectivas para generar efectos

mnésicos. Los datos indicaron que la consolidación de la memoria espacial del aprendizaje original era susceptible de ser alterada por la inhibición de la síntesis de proteínas cuando el fármaco Anisomicina era administrado 20 minutos antes del entrenamiento a través de microinyección intracerebroventricular bilateral. Así mismo, identificaron que el deterioro en la memoria era dosis dependiente, y que su administración no afectaba el desempeño a corto plazo, como tampoco pasadas 6 horas de su administración.

Otros estudios hallaron resultados similares utilizando distintos protocolos de entrenamiento, administración del fármaco y lugar de acción tanto en ratas como ratones. Algunos de estos estudios fueron los llevados a cabo por Lattal y Abel en 2001 y por Lattal y colaboradores en 2004. Estos investigadores encontraron que la memoria de una preferencia espacial adquirida en el laberinto acuático de Morris era susceptible de ser afectada por el inhibidor de síntesis de proteínas Anisomicina al administrarlo intraperitonealmente 30 minutos antes del entrenamiento en ratones de la cepa C57BL/6. De manera similar Morris y sus colaboradores en 2006 demostraron que la microinyección bilateral de Anisomicina en el hipocampo dorsal de ratas, inmediatamente después de su entrenamiento en el laberinto acuático, daba lugar a un deterioro en la recuperación de la memoria en el momento de la prueba realizada 24 horas después del entrenamiento.

Si bien la mayor parte de los reportes acerca de la formación de la memoria a largo plazo para la adquisición inicial de la información apuntan a un efecto deletéreo cuando se inhibe farmacológicamente la síntesis de proteínas (independientemente de la forma de administración del fármaco y de la especie), reportes recientes indican que este efecto, así como los efectos de reconsolidación del aprendizaje original pueden estar mediados por la fortaleza de su adquisición (Suzuki & cols, 2004; Hernández & Abel, 2008, Rodríguez-Ortíz & cols., 2008). Por ejemplo, Rodríguez-Ortíz y sus colaboradores encontraron en 2008 que dependiendo de la cantidad de entrenamiento recibido antes de la primera inyección de Anisomicina, la memoria del aprendizaje original podía verse comprometida o no. El reporte indica que cuando los animales recibían un entrenamiento moderado con tres sesiones previas, la memoria era susceptible de ser alterada por vía farmacológica, mientras que cuando el entrenamiento era más intenso con 5 sesiones, no se observaba efecto al realizar la evaluación siete días después

del tratamiento. Adicionalmente, estos investigadores reportan que, a diferencia de otros estudios, observaron efectos del fármaco sobre la ejecución durante el entrenamiento, y que dichos efectos parecían relacionarse con un compromiso en la recuperación de la información previamente adquirida, efecto que además solo era significativo para aquellos animales que habían tenido un entrenamiento moderado.

Ahora, con respecto a los efectos de la inhibición farmacológica de la síntesis de proteínas sobre la consolidación de la extinción en paradigmas de aprendizaje espacial, se han reportado hasta donde sabemos sólo cinco estudios, todos ellos utilizando el laberinto acuático de Morris y arrojando resultados contradictorios entre ellos (Latal & Abel, 2001; Lattal & cols, 2004; Suzuki & cols, 2004; Morris & cols, 2006 & Rodríguez-Ortiz & cols, 2008).

El primer estudio que buscó explorar la relación entre síntesis de proteínas y la consolidación de la extinción de preferencias espaciales fue el desarrollado por Lattal y Abel en 2001. En esta investigación los autores encontraron que aún cuando la inhibición farmacológica de la síntesis de proteínas impedía la formación de memoria para un aprendizaje original a largo plazo, este tratamiento era incapaz de afectar la formación de memorias para la reversión de la preferencia espacial cuando era evaluada 24 horas después. La principal dificultad del anterior estudio radicaba en hacer equivalentes los entrenamientos en reversión y la extinción, por lo que en 2004 Lattal y colaboradores realizaron un experimento con entrenamiento en extinción administrando un ensayo por día durante 5 días inyectando el fármaco inmediatamente después de cada sesión. A pesar de las modificaciones en el protocolo, estos investigadores encontraron resultados semejantes, lo que hacía suponer que la memoria de la extinción tendría que estar sustentada por mecanismos distintos de la síntesis de proteínas. Llama la atención sin embargo, que en este estudio no se encontraron efectos de reconsolidación sobre el aprendizaje original al usar solo un ensayo por sesión con una duración de un minuto, ya que como algunos investigadores plantean (Pedreira & Maldonado, 2003; Suzuki & cols, 2004; Tronson & Taylor, 2007) cortas exposiciones al contexto en ausencia de refuerzo dan lugar a fenómenos de reconsolidación, mientras que exposiciones prolongadas dan lugar al fenómeno de extinción.

Otro estudio, como el realizado por Morris y colaboradores en 2006 tampoco encontró efectos relacionados con la administración de Anisomicina intrahipocampalmente

inmediatamente después de dos sesiones de extinción con cuatro ensayos de entrenamiento al realizarse la evaluación 24 horas después y a los siete días. En este sentido los autores concluyen que deben existir mecanismos alternativos para la consolidación a largo plazo de la memoria de la extinción de la preferencia espacial, tal como lo postularon Lattal y colaboradores (2006) quienes sugirieron que estos podrían incluir reorganización de las fibras del citoesqueleto, alteración de la morfología de las espinas dendríticas o internalización de receptores glutamatérgicos como los tipo AMPA.

Contrario a estos reportes, Suzuki y colaboradores en 2004 y Rodríguez-Ortíz y colaboradores en 2008, encontraron que la inyección de Anisomicina, intraperitoneal e intrahipocampal en ratones y ratas respectivamente, tenía efectos sobre la extinción en tareas espaciales.

En su estudio Suzuki y colaboradores (2004) muestran como animales que habían adquirido una preferencia espacial que fue extinta mediante 10 ensayos de entrenamiento, bajo los efectos sistémicos de la Anisomicina, eran capaces de presentar un proceso normal de extinción en el corto plazo, pero eran incapaces de recuperar este aprendizaje al ser evaluados 24 horas después. Estos investigadores sin embargo no reportaron información acerca de otros indicadores distintos a los de preferencia, tales como velocidad de nado o distancia total recorrida por los animales, por lo que no se pueden descartar efectos no directamente relacionados con la memoria.

Por su parte, Rodríguez-Ortíz y colaboradores (2008) mostraron que la inyección intrahipocampal de Anisomicina producía de entrada un efecto sobre el proceso de recuperación de la información adquirida durante el aprendizaje original, aún bajo el protocolo de mayor intensidad de entrenamiento en adquisición durante 5 sesiones. En este experimento los investigadores observaron que los animales no exhibían preferencia por el cuadrante objetivo desde el inicio del entrenamiento en extinción, pero además encontraron que este efecto se revertía al realizarse la evaluación de la extinción siete días después del entrenamiento, encontrando una mayor exploración en el área objetivo en los animales tratados con Anisomicina que en los animales control. Sin embargo, este reporte no es concluyente en torno a los efectos a largo plazo de la Anisomicina, ya que los animales control mostraron un efecto de

recuperación espontánea, alcanzando un nivel de recuperación de la preferencia similar al observado en el primer ensayo de extinción.

Al contrastar los reportes antes presentados con los hallazgos de este estudio, podemos establecer que contrario a lo reportado por Lattal & Abel (2001), Lattal y colaboradores (2004) y Morris y colaboradores (2006), encontramos efectos deletéreos sobre la consolidación de la extinción de una respuesta de preferencia espacial ocasionados por la inhibición farmacológica de la síntesis de proteínas, efecto que se caracterizó por un regreso a los valores de la latencia de llegada al agujero meta encontrados para el grupo durante la fase de recuperación, y una exploración del laberinto semejante a la del grupo de animales tratados con vehículo que no recibieron entrenamiento en Extinción, lo que confirma la segunda hipótesis formulada en este trabajo. Sin embargo, se presentó una excepción a la tendencia de los indicadores, ya que el tratamiento farmacológico no previno la reducción de exploración total del laberinto, pues tanto los animales tratados con Anisomicina como los Vehículo no mostraron diferencias en este indicador.

La distinción entre preferencia espacial y exploración del ambiente plantea la posibilidad de diferentes periodos de tiempo para la síntesis de proteínas en los sistemas de memoria implicados en la extinción de preferencias espaciales, por ejemplo Canal, Chang y Gold (2007) han mostrado la existencia de diferentes perfiles temporales de amnesia usando infusiones de Anisomicina en el hipocampo o la amígdala, lo cual podría ocurrir también en otras estructuras relacionadas con el aprendizaje de habilidades motoras y de exploración tales como los ganglios basales (caudado-putamen), el cerebelo o la corteza motora primaria. Se sabe que estas estructuras procesan información de forma paralela a las implicadas en el procesamiento de información de tipo relacional como el hipocampo (McDonald & White, 1994; White & McDonald, 2002; Gabrielle, 2005; Izquierdo, Bevilaqua, Rossato, Bonini, Da Silva, Medina & Cammarota, 2006). Además, se conoce que la inhibición farmacológica de la síntesis de proteínas antes o después del entrenamiento en tareas de tipo motor afecta tanto la consolidación como la reconsolidación (Luft & cols, 2004a; Luft & cols, 2004b; Peng & Li, 2006); sin embargo, se desconoce su efecto y curso temporal de acción para la extinción de aprendizajes de tipo motor. Dada esta divergencia en los procesos, podría resultar interesante

desarrollar versiones del laberinto que puedan ser solucionadas mediante estrategias táxicas, a fin de observar si su extinción requiere de síntesis de proteínas y en qué estructuras y ventanas temporales, lo cual podría explicar la disociación encontrada entre preferencia espacial alterada en contraposición a un patrón de exploración no alterado en aquellos animales tratados con el fármaco.

Por otro lado, al igual que Suzuki y colaboradores (2004) encontramos que la inhibición de la síntesis de proteínas afectó la consolidación de la extinción de la preferencia espacial. Aún cuando se utilizaron distintos métodos de administración del fármaco (i.p. vs i.c.v.) y se trabajó con especies diferentes (ratones vs ratas), en ambos estudios se encontró que los animales eran incapaces de evocar lo aprendido durante la extinción al ser evaluados 24 horas después, mostrando nuevamente la preferencia espacial que habían adquirido originalmente. Sin embargo, en el estudio de Suzuki no se reporta información acerca del recorrido del animal, por lo que se desconoce si el efecto de la Anisomicina se restringió a la preferencia espacial o si afectó también el patrón global de exploración, tal como ocurrió en el presente estudio.

Así mismo, los resultados del presente experimento son compatibles con los reportados por Rodríguez-Ortíz y colaboradores (2008), quienes también encontraron un efecto a largo plazo en la memoria de la extinción. Sin embargo, y como se mencionó anteriormente, estos resultados no pudieron atribuirse inequívocamente al compromiso del proceso de síntesis de proteínas, ya que en el estudio de Rodríguez la administración intrahipocampal del fármaco Anisomicina afectó la recuperación de la memoria desde el primer ensayo de extinción, indicando un compromiso mucho más temprano de la cascada de señalización celular. En nuestro estudio se observó, de forma similar, un efecto temprano de la inyección del fármaco pero sólo para el primer ensayo de extinción, donde se redujo la frecuencia total de exploración, más no se afectó la preferencia por el agujero meta. Estos resultados llaman la atención acerca de los mecanismos de acción de la Anisomicina y por tanto de la forma como afectan la memoria. Recientes investigaciones (Canal & cols, 2007; Gold, 2009) han encontrado que la inyección de Anisomicina en el hipocampo y la amígdala previo al entrenamiento produce incrementos en la liberación de norepinefrina, dopamina, serotonina y acetilcolina, cuya excesiva liberación puede que producir amnesia. En este sentido Gold (2008) y Qi y Gold (2009)

proponen que el patrón anormal de liberación de neurotransmisores contribuye significativamente a los mecanismos que subyacen a la amnesia producida por los inhibidores de síntesis de proteínas y que las proteínas necesarias para la formación de la memoria podrían estar disponibles antes del aprendizaje y sólo requerirían modificaciones post-traduccionales para permitir la formación de nuevas memorias. Sin embargo, múltiples reportes demuestran efectos de la administración de Anisomicina aún mucho después de la adquisición (Bekinschtein, Cammarota, Igaz, Bevilaqua, Izquierdo & Medina, 2007; Medina & cols, 2008), por lo que sus efectos sobre la memoria no pueden ser simplemente explicados por alteraciones durante la adquisición de la información.

Sin embargo, ante las dificultades para discernir si el efecto de la Anisomicina se da sobre la adquisición y no sobre la consolidación en el presente experimento, se propone medir la liberación de neurotransmisores, en estructuras como el hipocampo, después de la infusión del fármaco tal como se administró en el presente estudio y comparar sus niveles con los de animales control. Otra alternativa es modificar el protocolo experimental para administrar el fármaco una vez terminada la extinción, lo cual ha resultado efectivo para alterar la consolidación del aprendizaje de preferencias espaciales (Barrientos & cols, 2002; Lattal & cols, 2004); sin embargo, es importante precisar que esta modificación implicaría modificaciones al protocolo de entrenamiento, ya que al durar aproximadamente una hora el entrenamiento en extinción el fármaco podría no evitar eficazmente la síntesis de proteínas desencadenada desde el inicio del entrenamiento.

La evidencia en torno a la participación o no de la síntesis de proteínas en los procesos de consolidación de la memoria para la extinción de preferencias espaciales es variada y en ocasiones contradictoria, lo que no permite llegar a conclusiones generalizadas a todos los tipos y sistemas de memoria. La principal diferencia del presente estudio radicó en aspectos metodológicos relacionados con la cantidad de entrenamiento previo a la extinción, aspecto crítico para la acción de la Anisomicina, tal y como lo señalaron Suzuki y colaboradores (2004) y Rodríguez-Ortíz y colaboradores (2008). En este sentido, el presente estudio permitió la observación de los efectos de la Anisomicina debido a que se usó un protocolo con solo una

sesión de adquisición, contrario a lo que ocurrió en otros estudios donde se utilizaron protocolos con tres o más sesiones de adquisición.

Finalmente, la tercera hipótesis del presente estudio postulaba que aquellos animales tratados con Anisomicina sin entrenamiento en Extinción no deberían presentar un compromiso en la recuperación del aprendizaje original, a menos que el proceso de síntesis de proteínas fuera requerido aún 24 horas después de la activación de la memoria por la prueba de recuperación. Resulta interesante entonces que los animales tratados de esta forma exhibieran en la prueba post-tratamiento una latencia de llegada al agujero meta similar a la del primer ensayo de adquisición y distinta de la del grupo tratado con vehículo, además de no mostrar la preferencia por el agujero meta e incrementar la velocidad y la distancia recorrida en comparación del grupo tratado con vehículo. Estos resultados son semejantes a los observados en protocolos de reconsolidación de la memoria (Quevedo, Vianna, Roesler, de-Paris, Izquierdo, & Rose, 1999; Suzuki & cols, 2004; Morris & cols, 2006; Rodriguez-Ortiz & cols, 2008), sin embargo ya que la inyección del fármaco se realizó 24 horas después de la reactivación, los resultados podrían relacionarse de forma más consistente con los fenómenos de persistencia de la memoria tal como ha sido postulado recientemente (para revisión consultar Bekinschtein & cols, 2007; Medina & cols, 2008; Hernández & Abel, 2008).

Varios estudios han reportado un papel para la síntesis de proteínas en la reconsolidación del aprendizaje espacial inmediatamente después de la reactivación de la memoria. Suzuki y colaboradores (2004), como Morris y colaboradores (2006) observaron que una preferencia espacial adquirida podía desaparecer si se exponía a los animales a un corto ensayo no reforzado, efectos que sin embargo no se observaron por la simple administración del fármaco, sino que dependían de la activación concurrente de la memoria en el contexto del aprendizaje. A una conclusión similar llegaron Rodriguez-Ortiz y sus colaboradores (2008), haciendo la salvedad de que este efecto se presentaba únicamente cuando los animales habían recibido un entrenamiento moderado antes del tratamiento sobre la recuperación de la formación, por lo que aquellos animales que habían sido previamente bien entrenados tenían un trazo de memoria que no era sujeta a modificaciones a través de la alteración del proceso de reconsolidación.

Según estos reportes la síntesis de proteínas sería un proceso necesario para la reconsolidación del aprendizaje espacial, sólo inmediatamente después de que la memoria es reactivada, y su inhibición en otros momentos no debería tener efectos sobre el aprendizaje previo. Sin embargo, múltiples investigaciones han postulado que la consolidación de la memoria puede requerir de varias olas de transcripción y traducción genética y de síntesis de proteínas que afectan, ya no la formación de la memoria sino su mantenimiento. En este sentido se han observado varios periodos durante los cuales los inhibidores de síntesis de proteínas ejercen su efecto amnésico en preparaciones *in vivo* durante la formación de memorias asociativas (Grecksch & Matthies, 1980; Bourtchouladze, Abel, Berman, Gordon, Lapidus & Kandel, 1998; Igaz, Vianna, Medina & Izquierdo, 2002), los cuales pueden ser observados desde pocas horas hasta semanas después del aprendizaje (Bekinschtein & cols, 2007; Medina & cols, 2008; Hernández & Abel, 2008); además, este tipo de efectos también han sido observados recientemente en protocolos de facilitación a largo plazo a las 24 y 48 horas (Miniaci, Kim, Puthanveettil, Si, Zhu, Kandel, & Bailey, 2009). Dada esta evidencia, se postula que en la presente investigación los cambios observados en los animales tratados sólo con Anisomicina veinticuatro horas después de la reactivación de la memoria se explican por el compromiso de una de las oleadas de síntesis de proteínas que se requieren para el mantenimiento o persistencia de este tipo de memoria a largo plazo.

Las ventanas en las cuales se dan las oleadas de síntesis de proteínas y que permiten la consolidación, reconsolidación y persistencia de la memoria espacial no han sido completamente establecidas, esto en buena medida ya que los protocolos de investigación frecuentemente administran el fármaco sólo alrededor del momento del aprendizaje. Sería necesario entonces establecer aquellas ventanas temporales en las cuales este proceso es requerido para la persistencia de la memoria espacial, ya que estos pueden o no coincidir con los periodos establecidos para otros tipos de aprendizaje, y aún más, resultaría interesante conocer las ventanas en las cuales la síntesis de proteínas podría darse para sustentar la persistencia de las memorias relacionadas con la extinción del aprendizaje espacial.

Ahora, el hecho de que los fenómenos de extinción y mantenimiento de la memoria espacial requieran de la integridad de la síntesis de proteínas, nos lleva a cuestionarnos acerca

de los cambios fisiológicos y morfológicos que se relacionan con este proceso celular. Se sabe que en la adquisición de aprendizajes simples y en protocolos de potenciación a largo plazo (LTP) y depresión a largo plazo (LTD) se activan diversos mecanismos celulares que están implicados en cambios estructurales en las células (Bailey, Kandel & Si, 2004; Lamprecht & LeDoux, 2004) y en la formación de nuevas sinapsis (Kandel, 2001). Se ha establecido que los receptores NMDA tienen un papel en la extinción de respuestas de miedo condicionado, como lo demuestran los estudios que utilizan el fármaco D-Cycloserina, un agonista parcial de los receptores, cuyo efecto es facilitar la extinción (Walker, Ressler, Lu, & Davis, 2002; Ledgerwood, Richardson & Cranney, 2003); sin embargo, sus efectos dependen sin embargo de otras variables como la intensidad y contexto de entrenamiento (Bouton, Vurbic & Woods, 2008). Un papel semejante cumplen estos receptores glutamatérgicos en el condicionamiento apetitivo de lugar (Botreau, Paolone & Stewart, 2006) y en el condicionamiento operante (Shaw, Norwood, Sharp, Quigley, McGovern & Leslie); sin embargo en nuestra revisión no encontramos que los efectos de la D-Cycloserina hayan sido evaluados en la extinción de tareas de aprendizaje espacial. Por otra parte, Lee, Everitt y Thomas (2004) encontraron que la consolidación de la memoria en protocolos de evitación pasiva requiere del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en el hipocampo, mientras que la reconsolidación de la memoria depende de la actividad del gen Zif268. De manera similar Frankland, Bontempi, Talton, Kaczmarek y Silva (2004) demostraron que la recuperación de memorias remotas se acompaña de un incremento en la actividad de Zif268 y también del gen de activación temprana c-fos en la corteza cingulada. Recientemente Mamiya y colaboradores (2009) establecieron que los requerimientos de expresión génica y síntesis de proteínas en distintas estructuras del cerebro dependen de la duración de la exposición del animal al contexto del aprendizaje en ausencia de refuerzo. Estos investigadores demostraron que el proceso de reconsolidación en paradigmas de condicionamiento clásico con estímulos aversivos activa CREB (elemento de respuesta al AMPc) y la transcripción del gen Arc (proteína asociada a la regulación del citoesqueleto), así como la síntesis de proteínas en el hipocampo y la amígdala, mientras que la extinción activa estos procesos en la amígdala y la corteza prefrontal. Basados en este tipo de evidencias, Medina y colaboradores (2008) han sugerido que la actividad de BDNF en el hipocampo podría promover la persistencia de la memoria almacenada a largo

plazo a través de la inducción de cambios estructurales relacionados con el incremento del número de espinas dendríticas, el número de sinapsis y la regulación de número de ramificaciones de los axones.

Dados los resultados del presente estudio, así como la evidencia reportada por las investigaciones revisadas, se propone que posteriores estudios podrían orientarse a la observación de los cambios en la actividad génica y a cambios morfológicos en las neuronas de distintas áreas del cerebro, relacionados con el proceso de extinción, en particular buscando cambios en la expresión de genes tempranos, la activación de proteínas quinasas y fosfatasa, el cambio en la densidad de receptores de glutamato, así como en posibles variaciones de la densidad de espinas dendríticas en las neuronas. Este tipo de análisis permitirían solidificar la hipótesis de la necesidad de síntesis de proteínas para la formación y mantenimiento de la memoria de extinción y distinguirlos de aquellos efectos tempranos del fármaco sobre la liberación de neurotransmisores.

A modo general podemos concluir tal como lo postularon Lattal y colaboradores (2006) que las investigaciones realizadas para esclarecer el papel de la síntesis de proteínas *de novo* en la formación de la memoria de la extinción de una preferencia espacial deben tomar en consideración aquellas condiciones en las cuáles este proceso es necesario y en cuáles no. Si bien bajo algunas circunstancias los sistemas de señalización molecular involucrados en la formación de la memoria para la extinción parecen ser idénticos de los de la adquisición, en otras al parecer relacionadas con la intensidad del entrenamiento, pueden diferir. Así, dado que la extinción es una estrategia conductual tan importante y que ha sido conservada evolutivamente, es probable que múltiples mecanismos hayan evolucionado de forma paralela para asegurar que ante el cambio en la contingencia la extinción ocurra.

## Referencias

- Aguado, L. (2001). Aprendizaje y Memoria. *Revista de Neurología*, 32, 373-381.
- Alberini, C. (2005). Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes?. *Trends in Neuroscience*, 28: 51-56.
- Alonso, G., Lombas, S., Rodriguez, G. & Sanjuan, M. C. (2003). Aprendizaje por exposición a los estímulos. En Investigación contemporánea en aprendizaje asociativo, 51-66. J. Vila, J. Nieto y J. M. Rosas (Eds.). Jaén: del lunar.
- Amsel A. (1992). *Frustration theory: An analysis of dispositional learning and memory*. New York: Cambridge University Press.
- Anderson M., Bjork R., Bjork E. (1994) Remembering Can Cause Forgetting: Retrieval Dynamics in Long-Term Memory. *Journal of Experimental Psychology Learning Memory and Cognition*, 20, 1063-1087.
- Angueyra, J. & Arcos-Días, D. (2005). *La extinción facilita la nueva adquisición de la memoria espacial en ratas en el laberinto de Barnes*. Tesis de Grado. Laboratorio de Neurofisiología Comportamental de la Universidad Nacional de Colombia.
- Baddeley, A. (1995). The psychology of memory en Baddeley, Wilson & Watts (Eds). *Handbook of memory disorders*. Londres: Jonh Wiley & Sons.
- Bailey, C.H. & Kandel, E.R. (1993). Structural Changes Accompanying Memory Storage. *Annual Review of Physiology*, 55: 397-426.
- Bailey, C.H., Kandel, E.R. & Si, K. (2004). The persistence of long-term memory: a molecular approach to self-sustaining changes in learning-induced synaptic growth. *Neuron*, 44, 49–57.
- Bardgett, M., Humphrey, W. & Csernansky, J. (2001). The Effects of Excitotoxic Hippocampal Lesions in Rats on Risperidone- and Olanzapine-Induced Locomotor Suppression. *Neuropsychopharmacology*, 27, 930-938.
- Barnes C. (1979). Memory Deficits Associated With Senescence: A Neurophysiological and Behavioral Study in the Rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93, 74-104.

- Barrientos, R., O'Reilly, R. & Rudy, J. (2002). Memory for context is impaired by injecting anisomycin into dorsal hippocampus following context exploration. *Behavioural Brain Research*, 134, 299-306.
- Bekinschtein, P., Cammarota, M., Igaz, L., Bevilaqua, L., Izquierdo, I. & Medina, J. (2007). Persistence of long-term memory storage requires a late protein synthesis- and BDNF-dependent phase in the hippocampus. *Neuron*, 53, 261–277.
- Botreau, F., Paolone, G. & Stewart, J. (2006) d-Cycloserine facilitates extinction of a cocaine-induced conditioned place preference. *Behavioral Brain Research*, 172, 173–178.
- Bourtchouladze, R., Abel, T., Berman, N., Gordon, R., Lapidus, K., Kandel, E. (1998). Different training procedures recruit either one or two critical periods for contextual memory consolidation, each of which requires protein synthesis and PKA. *Learning and Memory*, 8, 365–374.
- Bouton, M. & Bolles, R. (1979). Contextual control of the extinction of conditioned fear. *Learning & Motivation*, 10, 445-466.
- Bouton, M. (1994). Conditioning, remembering and forgetting. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior*, 20, 219-231.
- Bouton, M. (2002). Context, ambiguity, and unlearning: sources of relapse after behavioral extinction. *Biological Psychiatry*, 52, 976-986
- Bouton, M., Vurbic, D. & Woods, A. M. (2008). D-cycloserine facilitates context-specific fear extinction learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 90 504–510.
- Brown, A. (1976). Spontaneous Recovery in Human Learning. *Psychological Bulletin*, 83, 321-38
- Canal, C., Chang, Q. & Gold, P. (2007). Amnesia produced by altered release of neurotransmitters after intraamygdala injections of a protein synthesis inhibitor. *PNAS*, 104, 12500–12505.
- Camelo-Roa, S., Yepes, M. & Torres, M. (2005). Efectos de la inhalación de un pegante de contacto sobre la memoria espacial en ratones. *Suma Psicológica*, 12, 101-116.
- Capaldi, E. (1994). The sequential view: From rapidly fading stimulus traces to the organization of memory and the abstract concept of number. *Psychonomic Bulletin and Review*, 1, 156-181.

- Capaldi, E., Robinson, G. & Fahrbach, S. (1999). Neuroethology of Spatial Learning: The Birds and the Bees. *Annual Review of Psychology*, 50, 651-682.
- Carr, H. & Watson, J. (1908). Orientation in the White Rat. *The Journal of Philosophy, Psychology and Scientific Methods*, 5, 275-277.
- Carrillo-Mora, P., Giordano, M., & Santamaria, A. (2009). Spatial memory: Theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. *Behavioural Brain Research*, 203, 151-164.
- Carvajal, A. (2006). Efectos de la inyección sistémica de corticosterona, como modelo de estrés agudo, sobre la recuperación de la memoria espacial en ratas. Tesis de Maestría. Laboratorio de Neurofisiología comportamental de la Universidad Nacional de Colombia.
- Chamizo, V. (1990). Ratas en el Laberinto: memoria espacial y mapas cognitivos. *En Cognición comparada. Estudios Experimentales sobre la mente animal* (Ed) Luis Aguado. Madrid: Editorial Alianza.
- Chamizo, V. (2002). Spatial Learning: Conditions and Basic Effects. *Psicológica*, 23, 33-57.
- Claro S., Vargas V., Cuestas, M., Lamprea M., Troncoso J. & Múnera A. (2008). Two different extinction processes in the Barnes Maze. *International Journal of Psychology*, 43(3-4), 489.
- Debiec, J., LeDoux, J. & Nader, K. (2002). Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus. *Neuron*, 36, 527-538.
- Denniston, J. C., & Miller, R. R. (2003). The role of temporal variables in inhibition produced through extinction. *Learning & Behavior*, 31, 35-48.
- Dhond, R. P., Buckner, R. L., Dale, A. M., Marinkovic, K. & Halgren, E. (2001). Spatiotemporal maps of brain activity underlying word generation and their modification during repetition priming. *The Journal of Neuroscience*, 21, 3564-3571.
- Domjan, M. (1999). *Principios de aprendizaje y conducta*. México: Internacional Thomson Editores.
- Eichenbaum, H. & Fortin, N. (2005). Bridging the gap between brain and behavior: cognitive and neural mechanisms of episodic memory. *Journal of Experimental Analysis of Behavior*, 84, 619-629.

- Falls, W. (1998). Extinction: a review of theory and the evidence suggesting that memories are not erased with nonreinforcement. En W. O'Donohue (ed.) *Learnig and Behavior Therapy*. Needham Heights, MA: Allyn & Bacon.
- Flood, J., Rosenzweig, M., Bennett, E. & Orme A. (1973). The influence of duration of protein synthesis inhibition on memory. *Physiology and Behavior*, 10, 555-62.
- Frankland, P, Bontempi, B., Talton, L., Kaczmarek, L.& Silva, A. (2004). The Involvement of the Anterior Cingulate Cortex in Remote Contextual Fear Memory. *Science* 304, 881-883 (2004).
- Gaerlick M. & Storm D. (2005). The Relationship Between Memory Retrieval and Memory Extinction. *Proceedings Natural Academic Sciences USA*, 102, 9091-9092.
- Gluck, M. & Myers, C. (1997). Psychobiological Models of Hippocampal Function in Learning and Memory. *Annual Review of Psychology*, 48, 481-514.
- Gold, P. (2008). Protein synthesis inhibition and memory: Formation vs amnesia. *Neurobiology of Learning and Memory*, 89, 201–211.
- Gómez-Palacio, A. & Escobar-Rodríguez, M. (2007). Codificación y retención de la memoria: el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en la plasticidad sináptica. *Revista de Neurología*, 45: 409-417.
- Good, M. (2002) Spatial memory and hippocampal function: where are we now?. *Psicologica*, 23, 109-138.
- Grecksch G & Matthies H (1980). Two sensitive periods for the amnesic effect of anisomycin. *Pharmacol Biochem Behav*, 12, 663–665.
- Gruart, A., Muñoz, M. & Delgado-García, J. (2006). Involvement of the CA3–CA1 Synapse in the Acquisition of Associative Learning in Behaving Mice. *The Journal of Neuroscience*, 26, 1077-1087.
- Hall (2007). Learned Changes in Stimulus Representations (A Personal History). *Spanish journal of psychology*, 10, 218–229.
- Harrison, F. E., Hosseini, A. H. & McDonald, M.P. (2009). Endogenous anxiety and stress responses in water maze and Barnes maze spatial memory tasks. *Behavioural Brain Research*, 198, 247 – 251.

- Hemmes, N. & Rubinsky, H. (1982). Conditional acceleration and external desinhibition of operant lever pressing by prereward, neutral and reinforcing stimuli. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 38, 1567-168.
- Hernández, P. & Abel, T. (2008). The role of protein synthesis in memory consolidation: Progress amid decades of debate. *Neurobiology of Learning and Memory*, 89, 293-311.
- Igaz, L., Vianna, M., Medina, J. & Izquierdo, I. (2002). Two time periods of hippocampal mRNA synthesis are required for memory consolidation of fear-motivated learning. *Journal of Neuroscience*, 22, 6781–6789.
- Inda, M., Delgado-García, J. & Carrión, A. (2005). Acquisition, consolidation, reconsolidation, and extinction of eyelid conditioning responses require de novo protein synthesis. *Journal of Neuroscience*, 25, 2070-2080.
- Izquierdo, I., Bevilaqua, L., Rossato, J., Bonini, J. Da Silva, W., Medina, J. & Cammarota, M. (2006). The connection between the hippocampal and the striatal memory systems of the brain: A review of recent findings. *Neurotoxicity Research*, 10, 113 – 121.
- Kandel, E, Jessell T, & Schwartz J. (1997) *Neurociencia y Conducta*. Madrid: Prentice Hall.
- Kandel, E. (2001). The molecular biology of memory storage: A dialog between genes and synapses. *Bioscience Reports*, 21, 565–611.
- Kart-Teke, E. De Souza Silva, A., Huston, J. & Dere, E. (2006). Wistar rats show episodic-like memory for unique experiences. *Neurobiology of Learning and Memory*, 85, 173–182.
- Keeton, W. (1974). The orientational and navigational basis of homing in birds. *Advances in the study of behavior*, 5, 47-132.
- Kehoe, E., Horne, A. & Macrae, M. (1995). Learning to learn: real-time features and a connectionist model. *Adaptive Behavior*, 3, 235-271
- Konorski, J. (1967). *Integrative activity of the brain*. Chicago: University of Chicago Press
- Kurotani, T., Higashi, S. Inokawa, H. & Toyama, K. (1996). Protein and RNA synthesis-dependent and –independent LTPs in developing rat visual cortex. *Neuroreport*, 8, 35-39.
- Lamprecht, R. & LeDoux, J. (2004). Structural plasticity and memory. *Nature Review Neuroscience*, 5, 45–54.

- Lattal, K. & Abel, T. (2001): Different requirements for protein synthesis in acquisition and extinction of spatial preferences and context-evoked fear. *Journal of Neuroscience*, 21, 5773–5780.
- Lattal, K., Mullen, M. & Abel, T. (2003) Extinction, Renewal, and Spontaneous Recovery of a Spatial Preference in the Water Maze. *Behavioral Neuroscience*, 117, 1017–1028.
- Lattal, M., Honarvar, S. & Abel, T (2004) Effects of post-session injections of anisomycin on the extinction of a spatial preference and on the acquisition of a spatial reversal preference. *Behavioural Brain Research*, 153, 327–339.
- Lattal, M., Radulovic, J. & Lukowiak, K. (2006). Extinction: Does It or Doesn't It? The requirement of altered gene activity and new protein synthesis. *Psychiatry*, 60, 344-351.
- Lee, J., Everitt, B. & Thomas, K. (2004) Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science*, 304, 839–843.
- Ledgerwood, L., Richardson, R., & Cranney, J. (2003). Effects of D-cycloserine on extinction of conditioned freezing. *Behavioral Neuroscience*, 117, 341–349.
- Llinas, R., Lang, E. & Welsh, J. (1997). The cerebellum, LTD, and memory: alternative views. *Learning and Memory*, 3, 445-455.
- Luft, A., Buitrago M., Ringer T., Dichgans J. & Schulz, J. (2004a). Motor skill learning depends on protein synthesis in motor cortex after training. *Journal of Neuroscience*, 24, 6515 - 6520.
- Luft, A., Buitrago, M., Kaelin-Lang A., Dichgans, J. & Schulz, J. (2004b). Protein synthesis inhibition blocks consolidation of an acrobatic motor skill. *Learning & Memory*, 11, 379 - 382.
- Mamiya, N., Fukushima, H., Suzuki, A., Matsuyama, Z., Homma, S., Frankland, P. & Kida, S. (2009) Brain region-specific gene expression activation required for reconsolidation and extinction of contextual fear memory. *Journal of Neuroscience*, 29, 402-413.
- Martin, S. J. Grimwood, P. D. & Morris, R. (2000) Synaptic Plasticity and Memory: An Evaluation of the Hypothesis. *Annual Review of Neuroscience*, 23, 649-711.
- McDonald, R & White, (1994). Parallel Information Processing in the Water Maze: Evidence for Independent Memory Systems Involving Dorsal Striatum and Hippocampus. *Behavioral and Neural Biology*, 61, 260-270.

- McGaugh J., Cahill L, Roozendaal B. (1996) Involvement of the Amygdala in Memory Storage: Interaction with other Brain Systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 93, 13508-13514.
- McGaugh J. (2000). Memory: A Century of Consolidation. *Science*, 287, 248-251.
- Medina, J., Bekinschtein, P., Cammarota, M., & Izquierdo, I. (2008) Do memories consolidate to persist or do they persist to consolidate?. *Behavioural Brain Research*, 192, 61–69.
- Meiri, N. & Rosenblum, K. (1998) Lateral ventricle injection of the protein synthesis inhibitor anisomycin impairs long-term memory in a spatial memory task. *Brain Research*, 789, 48–55.
- Mierzejewski, P., Olczak, M., Rogowski, A., Kostowski, W., Samochowicz, J., Filip, M., Przegalinski, E. & Bienkowski, P. (2008). Effects of cycloheximide on extinction in an appetitively motivated operant conditioning task depend on re-exposure duration. *Neuroscience Letters*, 441, 307 – 310.
- Miniaci, M., Kim, J., Puthanveettil, S., Si, K., Zhu, H., Kandel, E. & Bailey, C. (2009). Sustained CPEB-Dependent Local Protein Synthesis Is Required to Stabilize Synaptic Growth for Persistence of Long-Term Facilitation in Aplysia. *Neuron*, 59, 1024-1036.
- Morris, R. (1981) Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*, 12, 239-260.
- Morris R. (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal Neuroscience Methods*, 11, 47-60.
- Morris, R. & Frey, U. (1997). Hippocampal synaptic plasticity: role in spatial learning or the automatic recording of attended experience?. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 29, 1489–1503.
- Morris, R. Inglis, J. Ainge, J. Olverman, H. Tulloc, J. Dudai, Y. & Kelly, P. (2006). Memory Reconsolidation: Sensitivity of Spatial Memory to Inhibition of Protein Synthesis in Dorsal Hippocampus during Encoding and Retrieval. *Neuron*, 50, 479–489.
- Nader, K., Schafe, G. & LeDoux, J. (2000). Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature*, 406, 722-726.

- Napier, R., Macrae, M. & Kehoe, E. (1992) Rapid Reacquisition in Conditioning of the Rabbit's Nictitating Membrane Response. *Journal of Experimental Psychology*, 18, 182-192.
- Navarro, J. (1993) Fundamentos de la memoria y el aprendizaje. En: *Aprendizaje y memoria humana: aspectos básicos y evolutivos*. Madrid: McGraw-Hill.
- Neuringer, A., Kornell, N. & Olufs, M. (2001). Stability and variability in extinction. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 27, 79–94.
- O'Keefe, J. and Nadel, L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford: Oxford University Press.
- Olton, D. (1977). Spatial memory. *Scientific American*, 236, 82-98
- Paxinos, G. & Watson, C. (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 4ta edición. New York: Academic Press.
- Pavlov, I. (1927). *Conditioned reflexes: An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex*. Traducción de G. V. Anrep. En *Classics in the History of Psychology*.
- Pedreira, M., Pérez-Cuesta, L. & Maldonado, H. (2002). Reactivation and Reconsolidation of Long-Term Memory in the Crab *Chasmagnathus*: Protein Synthesis Requirement and Mediation by NMDA-Type Glutamatergic Receptors. *The Journal of Neuroscience*, 15, 8305-8311
- Pedreira, M. & Maldonado, H. (2003). Protein synthesis subserves reconsolidation or extinction depending on reminder duration. *Neuron*, 38, 863-889
- Peng, J. & Li, B. (2006). Protein synthesis is essential not only for consolidation but also for maintenance and post-retrieval reconsolidation of acrobatic motor skill in rats. *Molecular Brain*, 2, 2–10.
- Prados, J., Artigas, A.A. & Sansa, J. (2007). Preexposure effects in the spatial domain: Dissociation between latent inhibition and perceptual learning. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 33(2), 115–123.
- Prados, J., Sansa, J. y Artigas, A.A. (2008). Partial reinforcement effects on learning and extinction of place preferences in the water maze. *Learning and Behavior*, 36(4), 311-318.
- Qi, Z. & Gold, P. (2009). Intrahippocampal infusions of anisomycin produce amnesia: contribution of increased release of norepinephrine, dopamine, and acetylcholine. *Learning and Memory*, 16, 308 - 314.

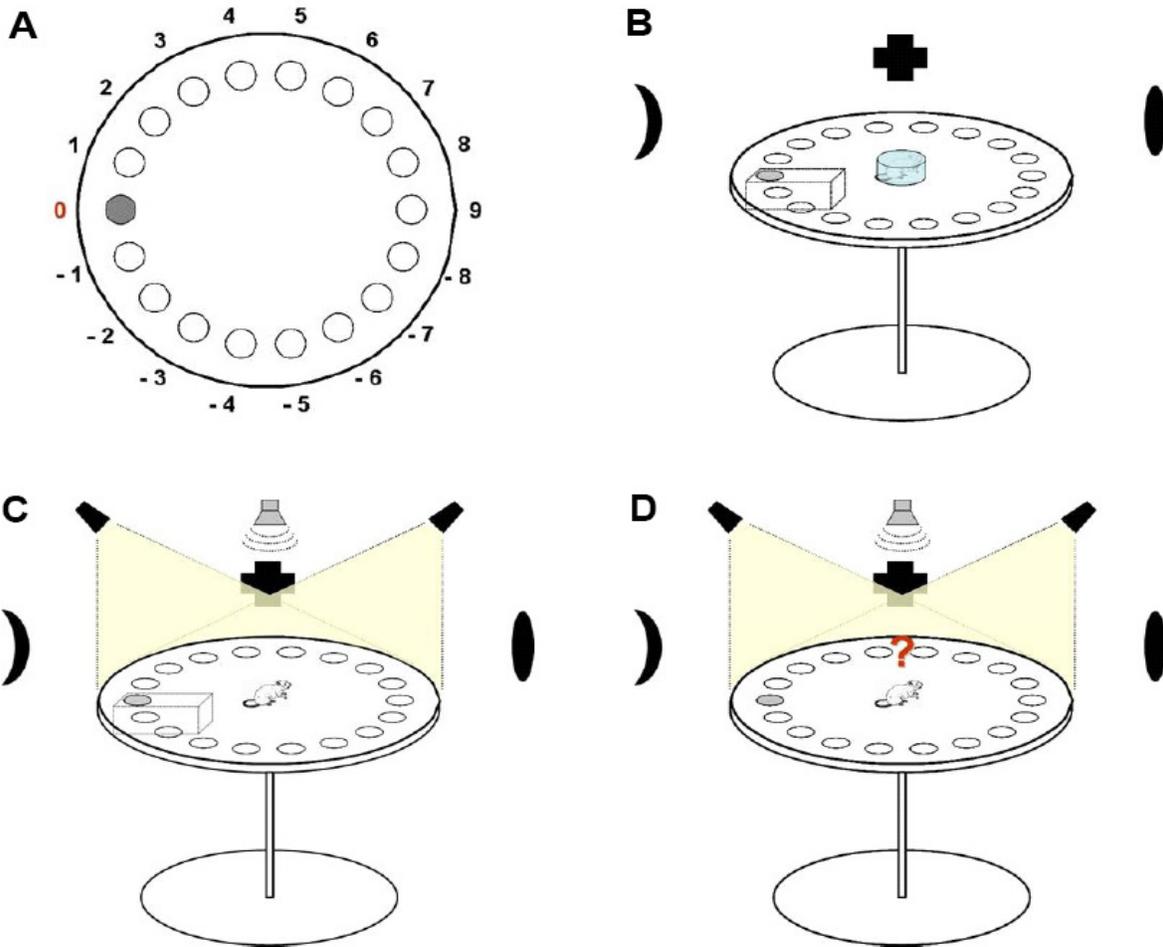
- Quirk, G. & Mueller, D. (2008). Neural Mechanisms of Extinction Learning and Retrieval, *Neuropsychopharmacology*, 33, 56–72.
- Quevedo, J., Vianna, M., Roesler, R., de-Paris, F. Izquierdo, I. & Rose, S. (1999) Two Time Windows of Anisomycin-Induced Amnesia for Inhibitory Avoidance Training in Rats: Protection from Amnesia by Pretraining but not Pre-exposure to the Task Apparatus. *Learning & Memory*, 6, 600-607.
- Redish, A. (1999) *Beyond the cognitive map – from place cells to episodic memory*. Cambridge MA: MIT Press
- Rescorla, R. & Heth, C. (1975). Reinstatement of fear to an extinguished conditioned stimulus. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 1, 88-96.
- Rescorla, R. & Cunningham, C. (1977). The erasure of reinstated fear. *Animal Learning & Behavior*, 5, 386-394.
- Rescorla, R. (1997). Spontaneous recovery after Pavlovian conditioning with multiple outcomes. *Animal Learning & Behavior*, 25, 99-107.
- Rescorla, R. A. (2001). Experimental extinction. En Mowrer, R. & Klein, S. (ed). *Handbook of contemporary learning theories*, 119–154. Mahwah, NJ: Erlbaum.
- Rescorla, R. (2004) Spontaneous recovery. *Learning & Memory*, 11, 501-509.
- Restle, F. (1957). Discrimination of cues in mazes: a resolution of the ‘place-vs-response’ question. *Psychological Review*, 65, 77-91.
- Rodrigo, T. & Prados, J. (2003). Aprendizaje asociativo y aprendizaje espacial: Historia de una línea de investigación (1981-2001). En Vila, Nieto & Rosas (ed). *Investigación contemporánea en aprendizaje asociativo*, 7 -20. España: UNAM.
- Rodríguez, S., Schafe, G., LeDoux, J. (2004): Molecular mechanisms underlying emotional learning and memory in the lateral amygdala. *Neuron*, 44, 75–91.
- Rodríguez-Ortiz, C., Garcia-DeLaTorre, P., Benavidez, E., Ballesteros, M. & Bermudez-Rattoni, F. (2008). Intrahippocampal anisomycin infusions disrupt previously consolidated spatial memory only when memory is updated. *Neurobiology of Learning and Memory*, 89, 352-359.

- Rosas, J. & Bouton, M. (1996). Spontaneous recovery after extinction of a conditioned taste aversion. *Animal Learning & Behavior*, 24, 341-348.
- Rosenzweig, M. & Leiman, A. (1992). *Psicología fisiológica*. 2ed. México: McGraw-Hill.
- Rosenzweig, M. (2007). Approaches to understanding the neurobiological basis of learning and memory: Historical Perspective. En *Neurobiology of Learning and Memory* 2nd edition. Kesner, R and Martinez, J (ed). Academic Press.
- Salomon, E. (2002). Mechanisms of Knowledge Learning and Acquisition. *Medical Science Monitor*, 8, 133-139.
- Sandi, C. (1998). The role and mechanisms of action of glucocorticoid involvement in memory storage. *Neural Plasticity*, 6, 41-52.
- Shaw, D., Norwood, K., Sharp, K., Quigley, L., McGovern, S. & Leslie, J. (2009). Facilitation of extinction of operant behaviour in mice by D-cycloserine. *Psychopharmacology*, 202,397-402
- Shepard, J. (1933). Higher Processes in the Behavior of Rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 19, 149-152.
- Sherry, D. & Healy, S. (1998). Neural mechanism of spatial representation. En *Spatial Representation in Animals*. (Ed) Sue Healy. Oxford: Oxford University Press.
- Skinner, B. (1938). *The behavior of organisms: an experimental analysis*. Oxford: Appleton-Century.
- Skinner, B. (1953). *Science and human behavior*. New York. The macmillan Company. (Trad. Fontanella, 1969).
- Small, W. (1901). Experimental Study of the Mental Processes of the Rat. II. *The American Journal of Psychology*, 12, 206-239.
- Staubli, U., Faraday, R. & Lynch, G. (1985). Pharmacological dissociation of memory: Anisomycin, a protein synthesis inhibitor, and leupeptin, a protease inhibitor, block different learning task. *Behavioral and Neural Biology*, 43, 287-297.
- Summers, M., Crowe, S. & Kim T. (2003) Memory retrieval in the day-old chick: a psychobiological approach. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27, 219-231.

- Suzuki, A., Josselyn, S., Frankland, P., Masushige, S., Silva, A. & Kida, S. (2004). Memory reconsolidation and extinction have distinct temporal and biochemical signatures. *Journal of Neuroscience*, 24, 4787-4795.
- Tarpy, R. (2000). *Aprendizaje: Teoría e investigación contemporánea*. México: McGraw Hill.
- Thinus-Blanc, C. (1996). *Animal Spatial Cognition: Behavioural and Brain Approach*. USA: World Scientific Publishing Co.
- Tolman, E.C., & Honzik, C.H. (1930). Introduction and removal of reward, and maze performance in rats. *University of California Publications in Psychology*, 4, 257- 275.
- Tolman, E., Ritchie, B. & Kalish, D. (1946a) Studies in Spatial Learning. I. Orientation and the Short-Cut. *Journal of Experimental Psychology*, 36, 13-24. (Reimpresión publicada en *Journal of Experimental Psychology: General*, 1992, 121(4), 429-434).
- Tolman, E., Ritchie, B. & Kalish, D. (1946b) Studies in Spatial Learning. II. Place learning versus response learning. *Journal of Experimental Psychology*, 36, 221-229.
- Tolman, E. (1948). Cognitive maps in rats and men. *The Psychological Review*, 55, 189-208.
- Tomie, A., Carelli, R. & Wagner, G. (1993) Negative correlation between tone (CS-) and water induces target-biting in rats. *Animal Learning and Behavior*, 21, 355-359.
- Torres, A. (2006) *Efectos del estrés agudo por restricción motora sobre la recuperación de y la extinción de una tarea espacial en ratas*. Tesis de Grado. Laboratorio de Neurofisiología Comportamental de la Universidad Nacional de Colombia.
- Tronson, N. & Taylor, J. (2007). Molecular mechanism of memory reconsolidation. *Nature Reviews Neuroscience*, 8, 262-275.
- Tsumoto, T. (1992). Long-term potentiation and long-term depression in the neocortex. *Progress in neurobiology*, 39 (2), 209-228.
- Tulving, E. (2002). Episodic memory: From mind to brain. *Annual Reviews in Psychology*, 53, 1-25.
- Vianna, M., Cammarota, M., Coitinho, A., Medina, J. & Izquierdo, I. (2003) Pharmacological Studies of the Molecular Basis of Memory Extinction. *Current Neuropharmacology*, 1, 89-98.

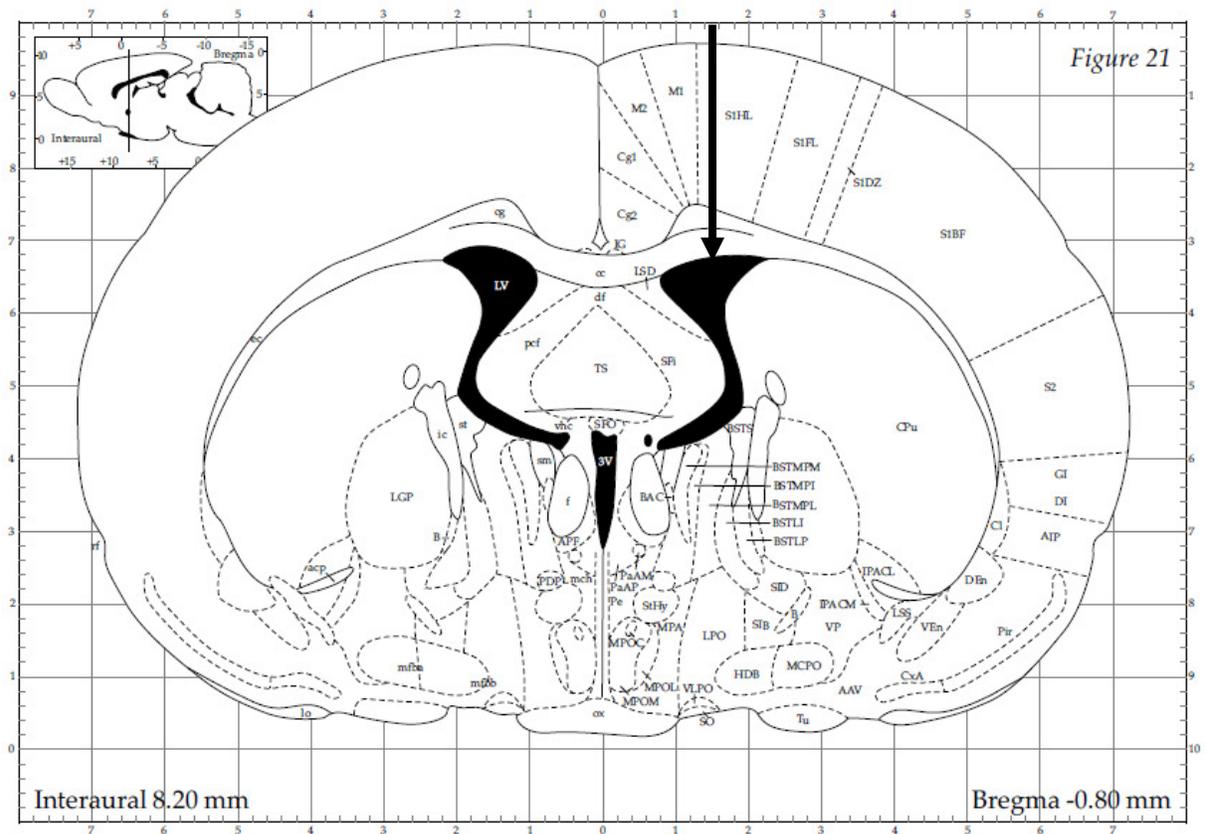
- Walker, D. L., Ressler, K. J., Lu, K.-T., & Davis, M. (2002). Facilitation of conditioned fear extinction by systemic administration or intra-amygdala infusions of Dcycloserine as assessed with fear-potentiated startle in rats. *Journal of Neuroscience*, 15, 2343–2351.
- Weidemann, G. (2005). *Savings and recovery after extinction of a classically conditioned response in the rabbit*. Tesis de doctorado. University of New south Wales.
- White, N. & McDonald, R. (2002). Multiple Parallel Memory Systems in the Brain of the Rat. *Neurobiology of Learning and Memory* 77, 125–184.
- Wittstock, S., Kaatz, H & Menzel, R. (1993). Inhibition of brain protein synthesis by cycloheximide does not affect formation of longterm memory in honeybees after olfactory conditioning. *Journal of Neuroscience*, 13, 1379-1386.

## ANEXO 1



**Laberinto circular de Barnes.** **A.** Vista superior del Laberinto circular de Barnes, se identifican los dieciocho agujeros del laberinto (0 a -1) y se destaca la ubicación del agujero meta (agujero 0, en gris) por debajo del cual se emplaza la caja de escape. **B.** Antes de comenzar cada ensayo de Adquisición y la Prueba con Caja, los animales se ubican en la caja de salida (caja celeste) en el centro del laberinto. El agujero meta (gris) tiene por debajo la caja meta (en línea punteada). **C.** Al inicio de la Adquisición y en la Prueba con Caja, la caja de salida se levanta y, simultáneamente, se encienden las luces y la fuente de sonido, ubicadas en el techo del recinto experimental, esta estimulación termina una vez que el animal se introduce en la caja de escape o se completan 4 minutos de exploración. **D.** Durante la fase de extinción se observa la exploración que el animal hace del laberinto durante 4 minutos bajo la estimulación aversiva sin posibilidad de escapar. En **B**, **C** y **D**: cruz, media luna, círculo corresponden a las claves extralaberínticas en las paredes del cuarto de experimentación. Figura reproducida: tomada del trabajo de grado titulado “El estrés agudo modifica la recuperación y la extinción de la memoria espacial en función de su intensidad” realizado por Diana Marcela Cuestas y dirigido por la Profesora Julieta Troncoso de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia.

## ANEXO 2



**Diagrama coronal del cerebro de la rata adulta del atlas de Paxinos y Watson (1998).** Representa el plano a nivel antero-posterior de -0.80 mm con respecto a Bregma. En el diagrama se indica con una flecha las coordenadas medio-lateral y dorsomedial a las cuales se dirigió la cánula, para algunos animales se implantó la cánula en el ventrículo izquierdo como se muestra, mientras que en otros se hizo en el ventrículo derecho.

### ANEXO 3A

Comparisons for factor: ENSAYO

Comparison	Diff of p	q	P	P<0,050
Ensayo 1 vs. Ensayo 7	143	8	13,308 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 8	138	8	12,886 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 6	126	8	11,805 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 4	123	8	11,312 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 5	117	8	10,947 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 3	97,3	8	9,087 <0,001	Yes

### ANEXO 3B

#### LATENCIA A META

<b>ANISOMICINA - SIN EXTINCIÓN</b>						
Paired t-test:						
Normality Test:		Passed	(P = 0,432)			
Treatment Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM	
e8	8	0	31,099	21,694	7,67	
pcc	8	0	20,296	17,3	6,117	
Difference	8	0	10,803	30,031	10,618	
t = 1,017 with 7 degrees of freedom. (P = 0,343)						
95 percent confidence interval for difference of means: -14,304 to 35,909						
Power of performed test with alpha = 0,050: 0,052						
<b>VEHICULO - SINEXTINCIÓN</b>						
Paired t-test:						
Normality Test:		Passed	(P = 0,758)			
Treatment Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM	
e8	7	0	29,984	19,636	7,422	
pcc	7	0	34,815	17,495	6,612	
Difference	7	0	-4,83	32,831	12,409	
t = -0,389 with 6 degrees of freedom. (P = 0,711)						
95 percent confidence interval for difference of means: -35,194 to 25,533						
Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050						
<b>ANISOMICINA - EXTINCIÓN</b>						
Normality Test:		Failed	(P < 0,050)			
Test execution ended by user request, Signed Rank Test begun						
Wilcoxon Signed Rank Test						
Group	N	Missing	Median	25%	75%	
e8	5	0	28,999	8,653	30,391	
pcc	5	0	12,792	10,482	34,715	
W= 5,000 T+ = 10,000 T- = -5,000						
Z-Statistic (based on positive ranks) = 0,674						
P(est.)= 0,590 P(exact)= 0,625						
<b>VEHICULO - EXTINCIÓN</b>						
Paired t-test:						
Normality Test:		Passed	(P = 0,074)			
Treatment Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM	
e8	8	0	20,099	21,922	7,751	
pcc	8	0	12,7	3,58	1,266	
Difference	8	0	7,399	21,419	7,573	
t = 0,977 with 7 degrees of freedom. (P = 0,361)						
95 percent confidence interval for difference of means: -10,508 to 25,306						
Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050						
The power of the performed test (0,050) is below the desired power of 0,800.						

### ANEXO 3C

Comparisons for factor: ENSAYO

Comparison	Diff of Means	q	P	P<0,050
Ensayo 2 vs. Ensayo 7	18,252	8	5,533	0,002 Yes
Ensayo 2 vs. Ensayo 8	17,234	8	5,225	0,005 Yes
Ensayo 2 vs. Ensayo 6	15,643	8	4,742	0,018 Yes
Ensayo 2 vs. Ensayo 5	15,528	8	4,708	0,02 Yes
Ensayo 2 vs. Ensayo 4	15,098	8	4,519	0,03 Yes

### ANEXO 3D

#### LATENCIA DE INICIO

ANISOMICINA - SIN EXTINCIÓN

Paired t-test:

Normality Test Passed (P = 0,171)

Treatment	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
e8	8	0	13,831	12,66	4,476
pcc	8	0	11,74	6,791	2,401
Difference	8	0	2,091	15,427	5,454

t = 0,383 with 7 degrees of freedom. (P = 0,713)

95 percent confidence interval for difference of means: -10,806 to 14,988

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050

VEHICULO - SINEXTINCIÓN

Paired t-test:

Normality Test Passed (P = 0,619)

Treatment	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
e8	7	0	17,051	14,07	5,318
pcc	7	0	11,59	6,466	2,444
Difference	7	0	5,461	10,425	3,94

t = 1,386 with 6 degrees of freedom. (P = 0,215)

95 percent confidence interval for difference of means: -4,180 to 15,103

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,124

ANISOMICINA - EXTINCIÓN

Paired t-test:

Normality Test Passed (P = 0,683)

Treatment	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
e8	5	0	9,226	5,978	2,674
pcc	5	0	10,602	6,006	2,686
Difference	5	0	-1,375	997%	446%

t = -0,308 with 4 degrees of freedom. (P = 0,773)

95 percent confidence interval for difference of means: -13,756 to 11,005

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050

VEHICULO - EXTINCIÓN

Paired t-test:

Normality Test Passed (P = 0,783)

Treatment	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
e8	8	0	8,953	5,152	1,822
pcc	8	0	9,991	5,506	1,947
Difference	8	0	-1,038	9,23	3,263

t = -0,318 with 7 degrees of freedom. (P = 0,760)

95 percent confidence interval for difference of means: -8,754 to 6,679

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050

### ANEXO 3E

Comparisons for factor: ENSAYO

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
Ensayo 1 vs. Ensayo 6	332,1		8	14,234 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 7	239,382		8	10,26 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 8	232,63		8	9,971 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 3	219,454		8	9,406 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 4	200,636		8	8,489 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 5	189,781		8	8,134 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 2	123,226		8	5,281	0,005 Yes

### ANEXO 3F

#### ERRORES PONDERADOS

<b>ANISOMICINA - SIN EXTINCIÓN</b>					
Paired t-test:					
Normality Test Passed (P = 0,112)					
Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev SEM
e8		8		0 96,284	91,628 32,395
pcc		8		0 60,774	98,353 34,773
Difference		8		0 35,511	105,697 37,37
t = 0,950 with 7 degrees of freedom. (P = 0,374)					
95 percent confidence interval for difference of means: -52,855 to 123,876					
Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050					
<b>VEHICULO - SINEXTINCIÓN</b>					
Paired t-test:					
Normality Test Failed (P < 0,050)					
Test execution ended by user request, Signed Rank Test begun					
Wilcoxon Signed Rank Test					
Group	N	Missing	Median	25%	75%
e8	7		0 16,323	4,081	44,392
pcc	7		0 112,773	24,36	189,694
W = 9,000 T+ = 15,000 T- = -6,000					
Z-Statistic (based on positive ranks) = 0,943					
P(est.) = 0,402 P(exact) = 0,438					
<b>ANISOMICINA - EXTINCIÓN</b>					
Paired t-test:					
Normality Test Passed (P = 0,674)					
Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev SEM
e8		5		0 82,003	67,407 30,145
pcc		5		0 41,168	35,571 15,908
Difference		5		0 40,835	6384% 2855%
t = 1,430 with 4 degrees of freedom. (P = 0,226)					
95 percent confidence interval for difference of means: -38,437 to 120,106					
Power of performed test with alpha = 0,050: 0,123					
<b>VEHICULO - EXTINCIÓN</b>					
Paired t-test:					
Normality Test Failed (P < 0,050)					
Test execution ended by user request, Signed Rank Test begun					
Wilcoxon Signed Rank Test					
Group	N	Missing	Median	25%	75%
e8	8		0 16,323	0	113,952
pcc	8		0 0	0	32,398
W = -6,000 T+ = 2,000 T- = -8,000					
Z-Statistic (based on positive ranks) = -1,095					
P(est.) = 0,361 P(exact) = 0,375					

### ANEXO 3G

Comparisons for factor: ENSAYO

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
Ensayo 7 vs. Ensayo 2	4,129		8	7,348 <0,001	Yes
Ensayo 7 vs. Ensayo 3	3,826		8	6,809 <0,001	Yes
<b>Ensayo 7 vs. Ensayo 1</b>	<b>3,537</b>		<b>8</b>	<b>6,295 &lt;0,001</b>	<b>Yes</b>
Ensayo 8 vs. Ensayo 2	2,946		8	5,244	0,005 Yes
Ensayo 8 vs. Ensayo 3	2,643		8	4,705	0,02 Yes

### ANEXO 3H

#### VELOCIDAD MEDIA

<b>ANISOMICINA - SIN EXTINCIÓN</b>					
Paired t-test:					
Normality Test	Passed	(P = 0,391)			
Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev SEM
e8		8		0	5,25 3,216 1,137
pcc		8		0	6,473 2,425 0,857
Difference		8		0	-1,222 3,698 1,307
t = -0,935 with 7 degrees of freedom. (P = 0,381)					
95 percent confidence interval for difference of means: -4,314 to 1,869					
Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050					
<b>VEHICULO - SINEXTINCIÓN</b>					
Paired t-test:					
Normality Test	Passed	(P = 0,538)			
Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev SEM
e8		7		0	4,75 3,378 1,277
pcc		7		0	5,199 2,435 0,92
Difference		7		0	-0,448 4,473 1,691
t = -0,265 with 6 degrees of freedom. (P = 0,800)					
95 percent confidence interval for difference of means: -4,585 to 3,689					
Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050					
<b>ANISOMICINA - EXTINCIÓN</b>					
Paired t-test:					
Normality Test	Passed	(P = 0,163)			
Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev SEM
e8		5		0	5,409 1,468 0,656
pcc		5		0	6,395 2,894 1,294
Difference		5		0	-0,986 417% 186%
t = -0,529 with 4 degrees of freedom. (P = 0,625)					
95 percent confidence interval for difference of means: -6,157 to 4,185					
Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050					
<b>VEHICULO - EXTINCIÓN</b>					
Paired t-test:					
Normality Test	Passed	(P = 0,412)			
Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev SEM
e8		8		0	8,313 6,038 2,135
pcc		8		0	6,29 3,443 1,217
Difference		8		0	2,022 8,071 2,854
t = 0,709 with 7 degrees of freedom. (P = 0,501)					
95 percent confidence interval for difference of means: -4,726 to 8,770					
Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050					

### ANEXO 3I

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
Ensayo 1 vs. Ensayo 6	332,1		8	14,234 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 7	239,382		8	10,26 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 8	232,63		8	9,971 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 3	219,454		8	9,406 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 4	200,636		8	8,489 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 5	189,781		8	8,134 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 2	123,226		8	5,281	0,005 Yes

### ANEXO 3J

#### DISTANCIA RECORRIDA

**ANISOMICINA - SIN EXTINCIÓN**

Paired t-test:

Normality Test: Passed (P = 0,801)

Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
e8	8	0	113,904	64,102	22,663	
pcc	8	0	109,451	101,67	35,946	
Difference	8	0	4,453	105,489	37,296	

t = 0,119 with 7 degrees of freedom. (P = 0,908)

95 percent confidence interval for difference of means: -83,738 to 92,644

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050

**VEHICULO - SINEXTINCIÓN**

Paired t-test:

Normality Test: Passed (P = 0,098)

Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
e8	7	0	71,207	24,885	9,406	
pcc	7	0	163,207	109,543	41,403	
Difference	7	0	-92	124,398	47,018	

t = -1,957 with 6 degrees of freedom. (P = 0,098)

95 percent confidence interval for difference of means: -207,049 to 23,049

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,287

**ANISOMICINA - EXTINCIÓN**

Paired t-test:

Normality Test: Passed (P = 0,542)

Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
e8	5	0	102,669	46,076	20,606	
pcc	5	0	81,837	34,998	15,651	
Difference	5	0	20,832	39,23%	17,54%	

t = 1,187 with 4 degrees of freedom. (P = 0,301)

95 percent confidence interval for difference of means: -27,879 to 69,542

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,079

**VEHICULO - EXTINCIÓN**

Paired t-test:

Normality Test: Passed (P = 0,065)

Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
e8	8	0	91,14	57,946	20,487	
pcc	8	0	64,693	32,508	11,493	
Difference	8	0	26,448	66,358	23,461	

t = 1,127 with 7 degrees of freedom. (P = 0,297)

95 percent confidence interval for difference of means: -29,029 to 81,924

Power of performed test with alpha = 0,050: 0,071

### ANEXO 3K

Comparisons for factor: ENSAYO

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
Ensayo 1 vs. Ensayo 7	30,202		8	7,364 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 3	28,986		8	7,068 <0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 8	23,569		8	5,747 0,001	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 6	22,528		8	5,493 0,003	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 4	18,965		8	4,565 0,027	Yes
Ensayo 1 vs. Ensayo 5	17,781		8	4,336 0,045	Yes

### ANEXO 3L

#### DISTANCIA MEDIA

<b>ANISOMICINA - SIN EXTINCIÓN</b>						
Paired t-test:						
Normality Tes: Failed (P < 0,050)						
Test execution ended by user request, Signed Rank Test begun						
Wilcoxon Signed Rank Test						
Group	N	Missing	Median	25%	75%	
e8		8	0 28,55	4,081		50,245
pcc		8	0 4,081	0		34,264
W= -12,000 T+ = 12,000 T- = -24,000						
Z-Statistic (based on positive ranks) = -0,844						
P(est.)= 0,439 P(exact)= 0,461						
<b>VEHICULO - SINEXTINCIÓN</b>						
Paired t-test:						
Normality Tes: Passed (P = 0,066)						
Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
e8			7	0 13,794	16,458	6,221
pcc			7	0 26,032	22,099	8,353
Difference			7	0 -12,238	31,506	11,908
t = -1,028 with 6 degrees of freedom. (P = 0,344)						
95 percent confidence interval for difference of means: -41,376 to 16,901						
Power of performed test with alpha = 0,050: 0,054						
<b>ANISOMICINA - EXTINCIÓN</b>						
Paired t-test:						
Normality Tes: Passed (P = 0,444)						
Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
e8			5	0 23,966	18,494	8,271
pcc			5	0 17,353	17,504	7,828
Difference			5	0 6,613	2374%	1062%
t = 0,623 with 4 degrees of freedom. (P = 0,567)						
95 percent confidence interval for difference of means: -22,860 to 36,087						
Power of performed test with alpha = 0,050: 0,050						
<b>VEHICULO - EXTINCIÓN</b>						
Paired t-test:						
Normality Tes: Passed (P = 0,066)						
Treatment	Nar	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
e8			8	0 21,376	27,681	9,787
pcc			8	0 8,826	16,243	5,743
Difference			8	0 12,55	31,599	11,172
t = 1,123 with 7 degrees of freedom. (P = 0,298)						
95 percent confidence interval for difference of means: -13,868 to 38,968						
Power of performed test with alpha = 0,050: 0,071						



## **CURRICULUM VITAE**

### **DERLY VIVIANA VARGAS LÓPEZ**

#### **Educación**

2006 – En curso. Maestría en Psicología. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá - Colombia.

2009. Master Oficial en Neurociencias y Biología del Comportamiento. Universidad Pablo de Olavide. Sevilla - España. Becaria de la Fundación Carolina y auspiciada por IBRO-WERC.

1997 – 2003. Psicología. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá - Colombia.

#### **Cursos**

2008. *III International Course on Neurobiology: Techniques for electrophysiological recording in neural preparations*. Auspiciada por IBRO's Symposia & Workshops Programme; Bogotá - Colombia.

2007. *Advanced School on Neuroethology* - IBRO (International Brain Research Organization), Buenos Aires - Argentina. Con apoyo del programa de Movilidad de COLCIENCIAS.

#### **Experiencia Investigativa**

Tesis de Maestría en la Universidad Nacional de Colombia: 2007-2008. Efectos de la Inhibición de la Síntesis de Proteínas *de novo* sobre la Extinción de un Aprendizaje Espacial en el Laberinto de Barnes. Investigación desarrollada bajo la supervisión de Marisol Lamprea, PhD. y Alejandro Múnera, PhD., y financiada por la División de Investigación Sede Bogotá (DIB) de la Universidad Nacional de Colombia.

Estudiante Auxiliar de Investigación: 2008. Cambios inducidos por estrés agudo en la actividad de quinasas y fosfatasas en el hipocampo y su relación con modificaciones en la memoria espacial. Investigación desarrollada bajo la dirección de Alejandro Múnera, PhD., y financiada por el Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología (COLCIENCIAS).

#### **Experiencia Docente y Profesional**

2007. Estudiante Auxiliar con funciones docentes en la Cátedra de Cerebro y Comportamiento. Departamento de Psicología – Universidad Nacional de Colombia.

2000 -2001- Monitora – Auxiliar de Docencia en las Cátedras de Cerebro y Comportamiento, Psicopatología y Metodología de la Investigación. Departamento de Psicología – Universidad Nacional de Colombia.

2000. Psicóloga Practicante en el Área de Neuropsicología Clínica. Fundación Santafé de Bogotá.

## Referencias

Vargas, V., Lamprea, M., Múnera, A. (2009) *The Protein Synthesis Inhibitor Anisomycin Impairs Consolidation and Extinction of Spatial Reference Memory in Wistar Rats*. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. Conference Abstract: 41st European Brain and Behaviour Society Meeting.

Vargas V., Torres A., Múnera A. & Lamprea M. (2008). Acute stress has not effect on long-term object recognition memory in rats. *International Journal of Psychology*, 43, 522.

Vargas V. (2008). Interference and facilitation effects on the recall of a list of words induce by presented or self-generated verbal information. *International Journal of Psychology*, 43, 522.

Claro S., Vargas V., Cuestas, M., Lamprea M., Troncoso J. & Múnera A. (2008). Two different extinction processes in the Barnes Maze. *International Journal of Psychology*, 43, 489.

Lamprea, M., Vargas, V., Claro, S., Torres, A. Múnera, A. (2008). Efectos diferenciales del estrés agudo en tareas de memoria episódica a corto y largo plazo. *Acta Biológica Colombiana*, 13(2), p. 222.

Vargas, V., Claro, S., Cuestas, M., Lamprea, M & Troncoso, J. (2008). Extinción y reestablecimiento de una preferencia espacial en el laberinto de Barnes. *Acta Biológica Colombiana*, 13, 240.

Vargas V. (2007). *Long and shot term effects of stress and social isolation in the acquisition of object recognition memory in rats*. IBRO Advanced School on Neuroethology 2007; Buenos Aires, Argentina.

Torres, A., Vargas, V., Lamprea, M. & Múnera, A. (2007). Evaluación de la Preferencia por la forma o la textura de dos tipos de objetos en ratas. *Revista Colombiana de Psicología*, 16, 49-56.