# Efectos del enriquecimiento ambiental en el contraste negativo sucesivo operante

Thesis ·	July 2017									
DOI: 10.131	40/RG.2.2.14830.92487									
CITATIONI		READS								
CITATIONS										
0		510								
1 autho	1 author:									
9	Alatan dan Dadatan									
	Alejandro Rodrigo									
	University of Guadalajara									
	6 PUBLICATIONS 8 CITATIONS									
	SEE PROFILE									
	SEE PROFILE									
Some o	f the authors of this publication are also working on these related projects:									
Project	Walden View project									
Project	Walden view project									
Project	Environmental Enrichment View project									

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

# CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS CENTRO DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES EN COMPORTAMIENTO: OPCIÓN ANÁLISIS DE LA CONDUCTA



# Efectos del enriquecimiento ambiental en el contraste negativo sucesivo operante

#### **TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

#### MAESTRO EN CIENCIAS DEL COMPORTAMIENTO

PRESENTA

# ALEJANDRO RODRIGO GUTIÉRREZ TREJO

Director de tesis: Dr. Carlos de Jesús Torres Ceja

Codirector de tesis: Dr. Carlos Javier Flores Aguirre

GUADALAJARA, JALISCO. JULIO 2017

"Science is an ongoing process. It never ends. There is no single ultimate truth to be achieved, after which all the scientists can retire"

Carl Sagan, Cosmos 1980

# **Dedicatorias**

"Para mi compañera de vida y gran amor, María José.

Porque tú haces posible lo imposible"

# Agradecimientos

Tengo una necesidad enorme de agradecer a todas las personas que contribuyeron a la realización de este trabajo. Muchas de ellas dedicaron horas enteras e incluso días para que este texto se completara y así lograr cerrar un capítulo más de mi vida profesional. Creo que la mejor moneda de cambio es su reconocimiento a través de palabras que vivirán plasmadas por siempre aquí. En principio debo agradecer a mi familia, pues sin ellos nada de esto sería posible. A mis tan amados padres Paco y Lili, cuyo apoyo incondicional ha permanecido vigente en los últimos 30 años. A mi hermano Gerardo quien es ejemplo de lucha, perseverancia, fuerza y voluntad, a él quien siempre ha cuidado mi espalda. Por supuesto a mi pareja e incondicional amiga, mi columna vertebral y mi sostén María José, cuyas palabras me han llenado de paz en esos momentos de desesperación y cuya compañía es mi total satisfacción.

Por supuesto me es importante reconocer a todas esas personas que hicieron de este viaje algo fenomenal. A mis amigo(a)s Gonzalo Fernández, Erik Barrón, Laurent Ávila, Carlos Esparza, Enrique Hernández, y Zirahuén Vilchez quienes estuvieron presentes no sólo en los momentos de alegría y felicidad sino también en aquellos momentos en donde este proyecto parecía irrealizable. A todos ellos cuyas ideas y palabras de aliento sirvieron de plataforma para impulsar el presente trabajo.

Debo agradecer en especial al mí querido amigo y colega Luis Hernando Silva pues con ayuda de su tiempo e invaluable opinión este trabajo logró llegar a su fin.

De igual manera agradezco a mis tan estimados tutores el Dr. Carlos Torres y el Dr. Carlos Flores quienes sin su asesoramiento y guía nada de esto hubiera sido posible. A ustedes quienes con su dedicación y paciencia me enseñaron el significado de investigación.

Debo hacer un amplio agradecimiento a todos los investigadores y docentes que forman parte del programa del Posgrado en Ciencias del Comportamiento del Centro de Estudios e Investigaciones en Comportamiento (CEIC), Dr. Óscar García, Dr. Cristiano Valerio, Dr. José E. Burgos, Dra. María A. Padilla, Dra. María E. Rodríguez, Dr. Gerardo A. Ortiz y el Dr. Jonathán J. Buriticá, pues a través de sus enseñanzas me permitieron conocer y adentrarme en un área tan interesante como el estudio del comportamiento animal.

Antes de terminar me gustaría agradecer a la Universidad de Guadalajara no sólo por permitirme el uso de las instalaciones del CEIC sino también por mantener los más altos estándares académicos y permanecer a la vanguardia científica brindándome así la oportunidad de enfrentarme a un mundo laboral competitivo.

Por último me permito agradecer de manera expresa las facilidades económicas que fueron provistas por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) institución que bajo el programa de becas para estudios de posgrado (becario 305977), permitieron mi entera dedicación a la realización de este y otros estudios.

A todos ustedes, gracias. Gracias por haberme apoyado en todo momento y siempre creer en mí. A todos ustedes dedico este trabajo.

# Contenido

Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Resumen	7
Aislamiento Social	9
Enriquecimiento Ambiental	11
Tipos de EA	12
Efectos del EA en la conducta	13
Tareas conductuales y EA	18
Tareas espaciales	18
Tareas operantes	20
Contraste Negativo Sucesivo	23
Planteamiento del problema	26
Método	28
Sujetos experimentales	28
Condiciones de alojamiento	29
Privación	31
Aparatos	32
Pruebas conductuales	
Fase de adquisición (RF1/TF60, RF1).	33
Fase de entrenamiento (IV5, IV15, IV25)	
Fase de prueba IV30 (Pre cambio, Post cambio, Redeterminación y Extinción)	35
Diseño Experimental	37
Resultados	38
Discusión	49
Pafarancias	60

#### Resumen

Se ha reportado que el aislamiento social (AIS) temprano produce déficits en la ejecución de tareas espaciales. Así mismo, se ha demostrado que el enriquecimiento ambiental (EA) genera mejores ejecuciones en comparación a los grupos control (SOC y AIS). La mayoría de los efectos del EA han sido demostrados en tareas espaciales. Estas tareas enfocan su atención en los cambios de los patrones de locomoción que están íntimamente relacionados con respuestas emocionales de ansiedad. El presente trabajo delinea la falta de evidencia empírica en tareas de tipo operante y la necesidad de evaluar los efectos del EA en este tipo de procedimientos. Por último, se sugiere que la tarea de CNS permite evaluar las conductas emocionales de ansiedad y frustración bajo el paradigma operante a través del cumplimiento de criterios de respuesta específicos. Por lo anterior, el presente trabajo se diseñó con el propósito de evaluar los efectos del EA sobre las respuestas de ansiedad y frustración en un tarea de CNSc adaptada a un operando.

Se conformaron seis subgrupos (AISCON, SOCCON, EACON, AISEXP, SOCEXP y EAEXP) de seis sujetos cada uno expuestos a cuatro fases experimentales: Pre cambio (PRE), post cambio (POST), redeterminación (RED) y extinción (EXT). En la fase PRE, los grupos EXP fueron expuestos a una solución de agua azucarada al 32%, mientras que los grupos CON a una solución al 4%. En la fase POST, se devaluó la cualidad del reforzador de los grupos EXP a 4%. En la fase RED se incremento el valor del reforzador a 32% para todas las condiciones. En la fase de EXT se elimino de manera permanente el reforzador.

Los resultados mostraron un efecto de CNS en todos los grupos de la condición EXP durante la transición PRE-POST. En la fase de EXT, la tasa de respuesta de todos los

grupos disminuyó abruptamente. Los resultados no muestran diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos de los grupos EXP y CON en ninguna de las condiciones.

El efecto de CNS observado en los grupos EXP durante la fase POST no es consistente con lo reportado en la literatura de CNSo. Se sugiere que este resultado es efecto de la interacción entre el programa de reforzamiento utilizado (IV30) y la modificación cualitativa del reforzador.

#### Aislamiento Social

En las últimas décadas una gran cantidad de investigación en psicología ha demostrado que el aislamiento social (AIS) produce alteraciones conductuales relacionadas con un estado de respuestas exageradas ante los estímulos del medio ambiente (Lapiz et al., 2003). Un ejemplo de ello es la hiperactividad locomotora en ambientes novedosos o un incremento de los niveles de ansiedad en una variedad de tareas conductuales. Además de esto, el AIS se ha relacionado con un deterioro en el desarrollo de tareas de memoria y aprendizaje (Brenes, Rodríguez, & Fornaguera, 2008). La serie de alteraciones que se generan a causa del AIS se les denomina síndrome de aislamiento (Valzelli, 1973).

Diferentes autores han reconocido que el AIS en etapas tempranas del desarrollo genera estados de continuo estrés (Beery & Kaufer, 2015; Sandi & Haller, 2015). La exposición ante tales situaciones resulta en cambios a nivel fisiológico (e.g. disminución del peso corporal, alteraciones en la composición sanguínea, neurogénesis) y conductual (e.g. agresión, alteración del aprendizaje, ansiedad) (Beery & Kaufer, 2015; Haller, Harold, Sandi, & Neumann, 2014; Hatch, Wilberg, Balazs, & Grice, 1963; Lapiz et al., 2003; Sandi & Haller, 2015).

Un ejemplo de las alteraciones conductuales que tienen lugar como efecto del AIS es el trabajo realizado por Pascual, Catalan y Fuentealba (2003). El objetivo de los autores fue evaluar las alteraciones conductuales asociadas con la neofobia generadas por el AIS en etapas tempranas del desarrollo. Durante la primer fase del experimento los autores expusieron a 46 ratas macho de la cepa Sprague-Dawley a dos tipos de alojamiento (social y aislado). Esta fase dio inicio después del destete (día 21) y finalizó al día 53. Al término de la fase los sujetos fueron expuestos a la prueba de laberinto de cruz elevado (LCE) (*c.f.* Mulder & Pritchett, 2004). La segunda fase dio inició al día 55. Las condiciones de

alojamiento se revirtieron para el grupo AIS (asilado - social), mientras que las del grupo social (SOC) se mantuvieron constantes. Al día 86 los sujetos fueron colocados por segunda vez en el LCE.

Los resultados del grupo AIS en ambas pruebas mostraron índices elevados de ansiedad reflejados en una menor frecuencia de entrada a los brazos abiertos, así como una disminución en el tiempo de permanencia en los brazos abiertos en comparación al grupo SOC. Incluso aún cuando las condiciones de alojamiento fueron revertidas, los resultados no mostraron diferencias significativas. A partir de los resultados se concluye que el AIS temprano afecta la conducta obstaculizando a los sujetos a afrontar situaciones novedosas (Pascual et al., 2003).

Otro caso que evidencia los cambios conductuales producidos por el AIS temprano, es el trabajo de Weiss et al. (2004). El objetivo del estudio fue investigar los cambios conductuales y neuroendocrinos producidos por el AIS crónico y la reactividad conductual en respuesta a diversos tratamientos de estrés. Para evidenciar esto los autores expusieron a 28 ratas de la cepa Spague-Dawley de ambos sexos a dos condiciones de alojamiento (AIS y SOC). Dichas condiciones se mantuvieron por un periodo de 13 semanas a partir del destete. Al cabo de este periodo todos los sujetos fueron expuestos a la tarea de campo abierto (CA) (*c.f.*, Gould, Dao, & Kovacsics, 2009; Kumar, Bhat, & Kumar, 2013) y el LCE.

Los resultados no mostraron un efecto de interacción entre el sexo de los sujetos y las condiciones de alojamiento en la prueba de CA. Los índices de ansiedad evaluados a través del total de distancia recorrida que obtuvo el grupo de ratas AIS no fueron diferentes al grupo SOC. Estos resultados contrastan con lo reportado en la literatura pues comúnmente los grupos AIS tienden a mostrar índices de hiperactividad en ambientes novedosos. Los

autores sugieren que este resultado es un efecto de la cepa utilizada. Por otra parte, los resultados de la tarea de LCE mostraron una menor frecuencia de entradas a los brazos abiertos en las ratas macho del grupo AIS en comparación a los otros grupos. A partir de estos resultados los autores sugieren que el AIS crónico puede incrementar los niveles de ansiedad y afectar de manera permanente la conducta de ratas adultas, especialmente en ratas macho.

Recientemente Shao et al. (2015) probaron los efectos que produce el AIS temprano en la conducta de los sujetos. Para este experimento los autores utilizaron 20 ratas macho de la cepa Sprague-Dawley divididas en dos grupos (SOC y AIS). Los sujetos fueron alojados en estas condiciones a partir del destete. Al día 78 se evaluó la conducta de los sujetos en la prueba de LCE. En correspondencia con los trabajos descritos anteriormente, los autores reportaron que los sujetos del grupo AIS muestran un menor tiempo en los brazos abiertos en comparación al grupo SOC. Los resultados son consistentes con lo reportado en el área y sugieren que el AIS genera mayores niveles de ansiedad como efecto del estrés continuo.

En resumen, el alojamiento de animales en condiciones aisladas durante las etapas tempranas del desarrollo genera alteraciones conductuales persistentes asociadas a estados de estrés y ansiedad que afectan los patrones de exploración y locomoción retardando la habituación a ambientes novedosos.

Un tratamiento que ha descrito revertir parcialmente los efectos generados por el AIS es el enriquecimiento ambiental (EA).

# **Enriquecimiento Ambiental**

Particularmente en condiciones de laboratorio, el término *Enriquecimiento Ambiental* ha sido utilizado para describir la exposición de animales a un medio ambiente que provee

una mayor estimulación física o social a la que recibirían bajo condiciones de alojamiento estándar (Brenes et al., 2008; Mora-Gallegos et al., 2015; Nithianantharajah & Hannan, 2006; Rosenzweig & Bennett, 1996; Simpson & Kelly, 2011; Will, Galani, Kelche, & Rosenzweig, 2004).

# Tipos de EA

Principalmente son dos las características que identifican al EA y esas son, la modificación de las condiciones físicas y sociales del alojamiento.

El enriquecimiento físico incluye modificaciones estructurales tales como el incremento de la superficie o la inclusión de plataformas las cuales permiten el acceso a otros niveles (Simpson & Kelly, 2011). El incremento en la superficie de las cajas de EA permite la incorporación de objetos complejos y variados como materiales de nidificación, túneles de plástico, objetos de madera para roer, sogas, escaleras, pelotas y ruedas de ejercicio. (Nithianantharajah & Hannan, 2006). Dichos objetos proveen a los sujetos la oportunidad de establecer zonas de resguardo y desarrollar conductas de ejercicio, juego y/o exploración (Simpson & Kelly, 2011). Además posibilitan a los sujetos a tener un cierto tipo de control sobre el medio ambiente (Fischer, 2016) lo que favorece el desarrollo de habilidades motoras finas (Nithianantharajah & Hannan, 2006). En este tipo de enriquecimiento es muy común que se modifique la localización de las fuentes de alimento y bebida para propiciar conductas de forrajeo. De modo semejante, las fuentes de EA son reemplazadas y reubicadas constantemente. La novedad generada por dichos cambios promueve una constante búsqueda y reconocimiento de los objetos en el espacio (Simpson & Kelly, 2011). Algunos autores (Nithianantharajah & Hannan, 2006; Will et al., 2004) han sugerido que los niveles de atención, el aprendizaje motor y el aprendizaje espacial incrementan como resultado de los cambios constantes en las características del medio ambiente.

Otra causa de variabilidad en el medio ambiente es la inclusión de conespecíficos. El alojamiento de animales en grupos (e.g. dos o más individuos) se le conoce como enriquecimiento de tipo social. Este tipo de alojamiento genera una fuente constante de interacción dinámica entre los sujetos del grupo (Simpson & Kelly, 2011). Según Will et al. (2004) dicha interacción puede generar entre otros, un aprendizaje de tipo inhibitorio.

En línea con lo anterior, parece ser que la interacción entre las condiciones físicas y sociales con características como la edad de los sujetos, el tiempo total de exposición y los intervalos de tiempo en que los sujetos se exponen al EA son variables que han demostrado ser capaces de modificar los efectos neuroquímicos y conductuales (Brenes et al., 2008; Mora-Gallegos et al., 2015; Nithianantharajah & Hannan, 2006; Rosenzweig & Bennett, 1996; Simpson & Kelly, 2011; Will et al., 2004).

#### Efectos del EA en la conducta

El trabajo realizado por Donald Hebb en 1949, es considerado como la primer evidencia científica que describe los efectos del enriquecimiento ambiental (Fischer, 2016; Nithianantharajah & Hannan, 2006; Rosenzweig, 1996). La idea de EA surge de los estudios que el autor realiza con el objetivo de conocer si el desarrollo de las conductas inteligentes en humanos estaba vinculado a la historia particular del individuo. Debido a las limitaciones metodológicas que presentaba estudiar la historia de los individuos durante la etapa del desarrollo, Hebb adoptó a las ratas como modelo animal.

El objetivo del estudio fue evaluar si podrían generarse diferencias entre la exposición de sujetos a un medio ambiente restringido en comparación a sujetos expuestos a un medio

ambiente de mayor amplitud<sup>1</sup>. Los resultados mostraron que no sólo las ratas del grupo en la condición de mayor amplitud obtuvieron el menor número de errores en comparación al grupo con restricciones en el laberinto de Hebb-Williams (*c.f.* Pritchett & Mulder, 2004) sino que, todas las ratas de este grupo alcanzaron las puntuaciones más altas (Hebb, 1949). Hebb concluye que la exposición de ratas a experiencias enriquecidas en etapas tempranas del desarrollo facilita la ejecución de tareas en ambientes novedosos durante etapas adultas en comparación a los sujetos alojados en cajas de laboratorio estándar. Con esta afirmación nace el área de investigación que actualmente se conoce como enriquecimiento ambiental (Rosenzweig, 1996).

A raíz de los hallazgos de Hebb, los estudios en el área de EA han incrementado exponencialmente en las últimas décadas (de Azevedo, Cipreste, & Young, 2007; Simpson & Kelly, 2011). La evidencia más reciente centra su atención en estudiar los efectos del EA en respuestas asociadas a estados emocionales de depresión, ansiedad y frustración durante las diferentes etapas del desarrollo<sup>2</sup> (Mora-Gallegos et al., 2015; Nithianantharajah & Hannan, 2006; Simpson & Kelly, 2011).

Algunos autores han sugerido que la exposición a EA durante los primeros meses de vida genera cambios conductuales significativos en comparación a grupos alojados en condiciones SOC o AIS (Brenes et al., 2008).

\_

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Los sujetos utilizados por Hebb en la condición restringida fueron alojados en cajas de laboratorio estándar mientras que a los sujetos de la condición de mayor amplitud los mantuvo en su casa como mascotas, permitiendo la libre exploración del medio ambiente por algunas semanas.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Específicamente en roedores se han establecido cuatro diferentes etapas del desarrollo en relación a cambios neurofisiológicos. La etapa neonatal ocurre entre el día postnatal (DPN) 0 y 21; la etapa prepuberal sucede entre el DPN21 al 30; la etapa adolescente contempla los DPN30 a 60 y por último, la etapa adulta continua del DPN60 en adelante (Eiland & Romeo, 2013; Semple, Blomgren, Gimlin, Ferriero, & Noble-Haeusslein, 2013). Algunos autores consideran la etapa adulta tardía a partir del DPN210 (Mora-Gallegos et al., 2015). Para mayor información del desarrollo neurológico entre especies en relación a las etapas del desarrollo visitar el sitio web <a href="https://www.translatingtime.net">www.translatingtime.net</a> desarrollado por Workman y colaboradores en 2013.

Un ejemplo de esto es lo reportado por Brenes y colaboradores (2008). Los autores investigaron los efectos que generaba el alojamiento diferencial (i.e., EA, SOC y AIS) durante etapas tempranas del desarrollo (DPN30) en las respuestas asociadas a depresión y ansiedad evaluadas en etapas adultas (DPN65, 93 y 107). Los autores expusieron a 45 ratas de la cepa Sprague-Dawley a dos diferentes pruebas conductuales, la prueba de CA y la prueba de nado forzado (c.f., Petit-Demouliere, Chenu, & Bourin, 2005; Slattery & Cryan, 2012). En la prueba de CA los resultados mostraron que el EA disminuye los índices de ansiedad como resultado de una reducción de la actividad locomotora y un incremento en la ocurrencia de conductas de acicalamiento en comparación a los grupos SOC y AIS. Por otra parte los resultados de la prueba de nado forzado sugieren que los sujetos expuestos a EA reflejan una menor propensión a mostrar respuestas asociadas a estados de depresión en comparación a los grupos AIS y SOC. Este resultado se entiende así pues los sujetos de la condición EA exhibieron los menores índices de inmovilidad. Los resultados de las pruebas sugieren que a mayor estimulación física o social recibida, mayor será la capacidad de los sujetos de afrontar las situaciones estresantes. De estos resultados se concluye que la exposición a EA en etapas tempranas del desarrollo mejora la habilidad que poseen los animales para procesar la información y facilita afrontar situaciones estresantes.

Los autores explican que las mejoras en las ejecuciones pueden ser resultado del desarrollo biológico incompleto. Esto genera que los sujetos sean más susceptibles a las variaciones del medio ambiente y por tanto posean una mayor capacidad para procesar los cambios en el espacio (Mora-Gallegos et al., 2015). Las interacciones que permiten los ambientes enriquecidos facilitan la expresión de cambios tanto a nivel estructural y funcional del cerebro como a nivel conductual (Fischer, 2016; Magalhães, Summavielle,

Tavares, & De Sousa, 2007; Mora-Gallegos et al., 2015; Nithianantharajah & Hannan, 2006).

Resultados similares se han descrito de la exposición de sujetos a EA durante etapas avanzadas del desarrollo. Usualmente el envejecimiento se asocia con la degeneración de las funciones biológicas como resultado de cambios fisiológicos. Se ha reportado que el incremento en la estimulación sensorial y social puede contrarrestar los efectos del envejecimiento, previniendo o demorando las consecuencias negativas del envejecimiento en paradigmas de aprendizaje y memoria (Fischer, 2016).

Un ejemplo que simplifica los efectos producidos por el EA dependiente de la edad de los sujetos al momento de su exposición es el trabajo de Mora-Gallegos et al. (2015). Los autores expusieron a 72 ratas macho de la cepa Wistar a diferentes condiciones de alojamiento (SOC y EA) durante un periodo de 3 meses. El objetivo principal fue conocer los efectos conductuales y neuroquímicos que producía el EA en ratas jóvenes y adultas (DPN21 y DPN210, respectivamente). Los autores expusieron a los sujetos a dos tipos de tareas, el CA para evaluar estados de ansiedad y el laberinto radial (c.f., Wenk, 2004) para evaluar aprendizaje espacial. En general los resultados de la prueba de CA muestran índices de ansiedad reducidos en las ratas de los grupos EA (jóvenes y adultas) pues, se evidencia una disminución en los patrones de actividad locomotora y un incremento en las conductas de levantamiento a lo largo de los días de prueba en comparación a los grupos control. Sugieren que tanto la madurez como la exposición al EA confieren la habilidad para extraer información de un medio ambiente novedoso de manera más eficiente (i.e. menos gasto energético explorando los límites de la arena) y proveen una mayor habilidad para hacer frente a estímulos ansiogénicos.

Los resultados en el laberinto radial mostraron un mejor desempeño global de la tarea en el grupo EA, evidenciando un efecto robusto en el tiempo de finalización sobre todo en ratas jóvenes. Además se evidencia que las ratas adultas requieren una menor exposición a las alternativas para aprender donde se encuentran los reforzadores y cuáles brazos ya se han visitado con anterioridad. Lo que sugiere que los animales adultos poseen diferentes habilidades de aprendizaje derivado del uso de rasgos conductuales característicos. Por ejemplo, parece ser que las ratas adultas son más cautas al explorar un medio ambiente novedoso en comparación a ratas jóvenes. Lo cual puede ser benéfico para los sujetos adultos pues les posibilita extraer información relevante del ambiente de manera eficiente pero posiblemente de manera más lenta.

Se concluye que durante las etapas tempranas el EA acelera el desarrollo neuroquímico y conductual, mientras que en las etapas tardías previene los procesos degenerativos asociados a la edad (Mora-Gallegos et al., 2015). Otras investigaciones que centran su atención en los efectos del EA en etapas adultas sugieren efectos benéficos similares (Frick & Fernandez, 2003; Goes, Antunes, & Teixeira-Silva, 2015; Kobayashi, Ohashi, & Ando, 2002).

De acuerdo con los resultados hasta ahora descritos se puede asegurar que los efectos del EA no dependen de una sola variable. Parece ser que la complejidad del alojamiento resultado de los cambios físicos y sociales permite que los sujetos adquieran y desarrollen diversas habilidades espaciales (Mora-Gallegos et al., 2015). La capacidad de procesar los cambios en el ambiente les permite adaptarse a ambientes novedosos y así mostrar mejoras en las ejecuciones de múltiples tareas conductuales.

Un aspecto de interés a considerar en el área de EA son las tareas conductuales que han sido empleadas para evaluar los efectos del tipo de alojamiento, pues parece ser que los

efectos comúnmente descritos guardan una relación con el tipo de procedimientos utilizados.

# Tareas conductuales y EA

En el siguiente apartado se pretende exponer de manera breve las tareas conductuales comúnmente utilizadas para evaluar los efectos del EA, haciendo énfasis en aquellas que evalúan aspectos emocionales como ansiedad.

# Tareas espaciales

Gran parte de los trabajos que describen los efectos conductuales y neurofisiológicos del EA sustentan sus resultados en tareas espaciales.

Tal como reporta Simpson y Kelly (2011) en su revisión sobre los efectos del EA, las pruebas conductuales comúnmente empleadas son el campo abierto (CA), el laberinto de cruz elevado (LCE), la prueba de nado forzado (PNF), el laberinto de agua de Morris (LAM), el reconocimiento de objetos novedosos (RON), el laberinto radial (LR) y la prueba de interacción social (PIS).

De acuerdo al tipo de evaluación las pruebas pueden dividirse en dos categorías, aquellas que centran su atención en procesos de memoria y aprendizaje espacial (LAM, RON, LR) y aquellas que se interesan en evaluar conductas emocionales de ansiedad (CA, LCE, PNF, PIS).

Las tareas diseñadas para evaluar conductas emocionales generalmente recopilan parámetros como distancias recorridas, tiempos de acicalamiento, tiempos de estadio por zonas, número de cruzamientos entre zonas, y número de heces fecales. La mayor parte de estos parámetros analizan la actividad general de los sujetos. La actividad locomotora es

utilizada como un índice simple del procesamiento de la información o aprendizaje que refleja la habilidad de adaptación del organismo a un medio ambiente novedoso (Brenes et al., 2008). La incapacidad de habituarse a un ambiente novedoso se traduce como un estado de ansiedad elevado (Gould et al., 2009; Kumar et al., 2013).

Por ejemplo, en la prueba de campo abierto (CA) se aprovecha la tendencia natural de los roedores de presentar tigmotaxis (preferencia de explorar las periferias de un medio ambiente novedoso). Durante esta prueba se cuantifica el tiempo que gasta el animal en el área interna o externa (periferia) y al término se compara su ejecución con la de otros individuos (Walsh & Cummins, 1976). Entre mayor sea el tiempo que pasan los animales en la periferia se asume que los animales son incapaces de hacer frente a situaciones novedosas, lo que refleja un estado de ansiedad elevado (Gould et al., 2009; Kumar et al., 2013; Stanford, 2007). Los resultados han demostrado que los grupos enriquecidos tienen una mayor facilidad para afrontar medios ambientes novedosos en comparación a grupos aislados pues muestran un menor tiempo en la periferia del campo y un mayor tiempo de exploración al centro de la arena (Simpson & Kelly, 2011).

De manera similar el laberinto de cruz elevado (LCE) es una prueba conductual ampliamente utilizada para evaluar ansiedad. Consiste de un laberinto elevado a 50 cm del piso con 4 brazos, dos de los cuales tienen paredes a los costados (i.e. cerrados), mientras que los dos restantes no tienen paredes (brazos abiertos) (Mulder & Pritchett, 2004). La ansiedad se evalúa a través de una mayor preferencia de los sujetos por los brazos cerrados en comparación a los brazos abiertos (Kumar et al., 2013). En general las ratas que han sido expuestas a EA presentan una mayor preferencia por entrar y pasar más tiempo en los brazos abiertos que los grupos control (Simpson & Kelly, 2011).

Se ha sugerido que el mejoramiento de los sujetos en el desempeño de este tipo de tareas puede derivarse de la disminución en la reactividad emocional atribuido a la exposición a un estrés medio que provee el alojamiento enriquecido. Por lo tanto reducir las consecuencias negativas que genera la crianza en un ambiente empobrecido puede facilitar el aprendizaje en situaciones y contextos no familiares (Mora-Gallegos et al., 2015).

Un elemento clave a resaltar de las tareas espaciales es la autonomía de los sujetos. La libertad que tienen los sujetos de trasladarse implica que los sujetos no deben cumplir criterios específicos de respuesta. En estas tareas no existe una relación directa entre los cambios del medio ambiente con la conducta de los sujetos. De tal forma que la evaluación de su conducta está sujeta a la interpretación del experimentador y no depende de una serie de reglas previamente establecidas. Por lo que podría sugerirse que las respuestas emocionales son evidencia indirecta de los patrones de locomoción.

Existe poca evidencia empírica que permita conocer si los sujetos alojados en condiciones enriquecidas son capaces de mostrar efectos diferenciales cuando son expuestos a tareas cuyos requerimientos explicitan el cumplimiento de criterios de respuesta específicos como la presión a la palanca. Una alternativa a esta problemática son las tareas operantes.

# **Tareas operantes**

Al contrario de las tareas espaciales, las tareas operantes han sido utilizadas para evaluar la interacción entre el organismo y el medio ambiente en el que habita (Reynolds, 1968). Uno de los beneficios de estas tareas es la descripción objetiva de la conducta resultado de la modificación sistemática del medio ambiente. Lo que permite medir o registrar una respuesta discreta de manera directa.

Una forma de evaluar los cambios en la conducta de los sujetos es a través del establecimiento de reglas bajo las cuales se entrega un reforzador particular. A esta serie de reglas se les conoce como programas de reforzamiento. Los programas de reforzamiento requieren que los organismos ejecuten una respuesta (presión a la palanca) para entregar el reforzador. La entrega del reforzador se puede hacer de acuerdo a un número de respuestas (programas de razón) o bien en relación a un periodo de tiempo específico (programas de intervalo). El ajuste de la respuesta de los sujetos a los programas de reforzamiento es una de las evidencias directas en que el medio ambiente es un factor que controla la conducta de los sujetos (Fester & Skinner, 1957).

A pesar de que las tareas operantes han sido ampliamente utilizadas desde finales de la década de los 50's (Fester & Skinner, 1957), existe poca evidencia de los efectos generados por el EA en tareas operantes. Las escasas investigaciones que han intentado explorar los efectos del EA en tareas operantes enfocan su atención en evaluar las ejecuciones de los sujetos en diversos programas de reforzamiento.

Uno de los trabajos germinales en donde se prueban los efectos del EA en una tarea operante es el realizado por Ough, Beatty, & Khalili (1972). El objetivo del estudio fue conocer si las condiciones enriquecidas permitían que los sujetos disminuyeran el número de respuestas innecesarias en comparación a sujetos alojados en condiciones AIS. Para probar su hipótesis los autores expusieron a 20 ratas de la cepa Holtzman a un programa de reforzamiento diferencial de tasas bajas (RDB20). Los resultados sugirieron que las ratas del grupo EA son capaces de inhibir respuestas innecesarias en comparación a las ratas AIS. Sin embargo un análisis visual de los resultados sugiere que el porcentaje de eficiencia calculado como el número de reforzadores obtenidos entre el número de respuestas se

encuentra por debajo del 50%. De tal forma que se podría concluir que los efectos no son concluyentes.

Otro ejemplo que describe los efectos del EA en procedimientos operantes es el descrito por Hoffmann, Schütte, Koch, & Schwabe (2009). El objetivo de la investigación fue probar los efectos resultantes de la exposición de sujetos a diferentes grados de EA en múltiples tareas conductuales incluyendo un programa de razón progresiva (RP). Los autores utilizaron un total de 34 ratas macho de la cepa Wistar alojadas en tres condiciones diferentes: altamente enriquecida, ligeramente enriquecida, y no enriquecida<sup>3</sup>. Previo a la exposición de los sujetos al programa de RP, los autores expusieron a los sujetos a una fase de entrenamiento para moldear la respuesta de presión a la palanca en un programa de razón fija 1 (RF1). Al término del entrenamiento se inició el programa de razón progresiva. Este programa incrementaba el requerimiento de respuesta en bloques de diez. Durante el primer bloque la entrega de reforzador fue programada en un RP1 (e.g. 1, 2, 3...10). Para el siguiente bloque de 10 respuestas se aumentó la exigencia del programa a un RP2 (e.g. 10, 12, 14...20) y así sucesivamente. En esta fase se evaluó el punto de quiebre que fue definido tras 5 minutos sin que el animal presionara la palanca.

En general los resultados no mostraron diferencias significativas entre los grupos en ninguna de las tareas. La posible causa de estos resultados es incierta pues la conclusión que plantean los autores está orientada a la confrontación de mecanismos neuronales y no a una explicación de tipo conductual. La insuficiente información impide cuestionar o

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Los sujetos de la condición altamente enriquecida fueron alojados en grupos de 11 sujetos en una caja de 60cm x 60cm x 100cm provista de múltiples materiales para escalar, manipular, esconderse y formar nidos. Las ratas de la condición ligeramente enriquecida fueron alojados en grupos de 6 en cajas de laboratorio estándar con solo un objeto para esconderse, material de nidificación y uno o dos juguetes. Por último los sujetos del grupo no enriquecido fueron alojados en grupos de 5 o 6 en cajas de laboratorio estándar sin ningún otro tipo de objeto.

formular hipótesis por las cuales no se encuentran diferencias entre los grupos experimentales.

En virtud de lo señalado, existe poca evidencia empírica que sea capaz de mostrar que el EA genera un efecto diferencial en tareas operantes. Aunado a esto, es importante destacar que las tareas operantes descritas hasta el momento no están orientadas a evaluar las respuestas emocionales tal como lo hacen las tareas espaciales. Por este motivo, el valor de combinar las exigencias de una tarea operante con la evaluación de las respuestas emocionales permitiendo evidenciar los efectos del EA se torna significativo.

Posiblemente un procedimiento capaz de producir, replicar e integrar los efectos del EA descritos en las tareas espaciales evaluando los efectos de ansiedad y frustración dentro del paradigma operante es el contraste negativo sucesivo (CNS).

## **Contraste Negativo Sucesivo**

El contraste negativo sucesivo (CNS), es un procedimiento dentro del paradigma operante que evalúa la disminución de la respuesta de los sujetos cuando se reduce inesperadamente el valor del reforzador en términos de calidad o cantidad (Papini, Fuchs, & Torres, 2015; Papini, Galatzer-Levy, & Papini, 2014). Se asume que dicha devaluación genera un respuesta o estado de ansiedad y frustración al provocar una "violación de las expectativas apetitivas" (Cuenya, Fosacheca, Mustaca, & Kamenetzky, 2011; Flaherty, Greenwood, Martin, & Leszczuk, 1998; Flaherty & Rowan, 1986).

Tradicionalmente se han utilizado dos tipos de procedimientos para estudiar el CNS, uno de ellos es el contraste negativo sucesivo instrumental (CNSi) y el otro es el contraste negativo sucesivo consumatorio (CNSc) (Papini et al., 2015).

Típicamente el CNSi evalúa los tiempos de traslado de los sujetos cuando la cantidad del reforzador es devaluado de manera inesperada. Para evaluar estos cambios, las ratas son expuestas a un laberinto complejo. El grupo experimental (EXP) es entrenado a recibir 5 pellets de azúcar (alternativa de mayor preferencia), mientras que el grupo control (CON) aprende a localizar un reforzador de menor preferencia (1 pellet de azúcar). Cuando el número de errores se ve disminuido en ambos grupos, el reforzador es devaluado inesperadamente para el grupo EXP (5 pellets – 1 pellet). El valor del reforzador para el grupo CON se mantiene constante (1 pellet). Los resultados en esta manipulación han permitido demostrar que la devaluación en la cantidad del reforzador tiende a un rápido deterioro de los tiempos de traslado en los grupos EXP (Papini, 2006, 2014; Papini et al., 2015; Papini et al., 2014).

De manera similar el CNSc evalúa la disminución de la actividad de los sujetos pero en lugar de manipular la cantidad del incentivo, se hace a través del cambio en la cualidad de este. El procedimiento más común incluye la exposición de los grupos EXP y CON a dos fases diferentes: la fase pre cambio (PRE) y la fase post cambio (POST). En la fase PRE el grupo EXP consume una solución de mayor preferencia (solución de agua azucarada al 32%), mientras que el grupo CON es expuesto a una solución de menor cualidad (solución de agua azucarada al 4%). Esta fase tiene una duración aproximada de 10 a 15 días y al cabo de este periodo comienza la fase POST. La fase POST se distingue por el cambio inesperado en el valor del reforzador para los sujetos de la condición EXP. La devaluación genera una disminución en el consumo de líquido de los sujetos del grupo EXP por debajo de los valores del grupo CON (Papini, 2006, 2014; Papini et al., 2014; Seal, Pelegrini, & Mustaca, 2010).

Este descenso de la respuesta por debajo de los valores del grupo CON ha sido distinguido como uno de los requerimientos claves para hablar de CNS. Pues la caída de la respuesta por debajo de los grupos control evidencia que la respuesta de los sujetos depende íntimamente de la valoración que estos asignan al reforzador (Papini, 2002, 2003, 2006). Otra de las características que comúnmente se reporta que ocurre, es aquel en donde la respuesta consumatoria o instrumental incrementa al cabo de unas sesiones y se ubica cerca de los niveles de respuesta de los grupos CON (Cuenya et al., 2011; Cuenya, Fosacheca, Mustaca, & Kamenetzky, 2012; Mustaca, Bentosela, & Papini, 2000). Aún cuando este patrón de respuesta es muy común, este no es una característica que defina el efecto de CNS.

Como se ha reconocido a lo largo de este documento, las condiciones de alojamiento pueden atenuar las respuestas asociadas a estados emocionales de ansiedad, frustración y depresión en ratas. Son pocos los estudios que han tratado de evaluar si las condiciones de alojamiento son capaces de reducir el efecto de CNS.

Un estudio que pretende conocer si el alojamiento diferencial es capaz de generar un efecto en la tarea de CNS es el realizado por Cuenya et al. (2012). El argumento central de este proyecto sugiere que si las respuestas de frustración y ansiedad comparten múltiples características entonces el alojamiento diferencial (AIS, SOC) sería capaz de alterar la reacción ante la devaluación del reforzador. Los autores expusieron a 42 ratas macho de la cepa Wistar a un procedimiento de CNSc; se dividieron a los sujetos en 4 grupos de acuerdo al tipo de alojamiento (AIS o SOC) y a la concentración a la que serían expuestos (EXP, 32% o CON, 4%). Los resultados de la prueba mostraron el efecto de CNSc en los sujetos de la condición EXP, pues los niveles de consumo de ambos grupos descendieron por debajo de los niveles de sus respectivos grupos control. Además de esto, a lo largo de

las sesiones en la fase POST, los niveles de consumo se recuperaron de manera gradual hasta alcanzar los valores de los grupos control. Los autores reportaron un mayor descenso en la tasa de consumo de los sujetos del grupo AIS al momento de la devaluación. Sin embargo un análisis detallado de la tasa de cambio a lo largo de las primeras 5 sesiones de la fase POST no mostró diferencias significativas entre los grupos EXP. Los autores sugieren que una de las posibles causas por la cual no se encontraron diferencias entre los grupos EXP se debía a la etapa del desarrollo en la que los sujetos fueron expuestos a las condiciones de alojamiento (DPN21-60).

Estos resultados permiten sugerir que las modificaciones en las condiciones sociales del medio ambiente en donde se alojan las ratas, generan cambios en la conducta de los sujetos en un procedimiento de CNSc como efecto de la disminución en la cualidad del reforzador. Sin embargo, no permite conocer si las condiciones tanto físicas y sociales que caracterizan al EA, son capaces de generar cambios en las respuestas de ansiedad y frustración como resultado de un efecto contraste en una tarea operante.

#### Planteamiento del problema

Como se ha descrito el AIS en ratas genera trastornos conductuales relacionados con un estado de respuestas exageradas ante los estímulos del medio ambiente. Evidencia empírica ha reportado que este tipo de alojamiento genera un desempeño pobre en tareas de memoria y aprendizaje. Además, se ha demostrado que la privación de la interacción social produce alteraciones en las respuestas emocionales asociadas con estados de ansiedad (e.g. hiperactividad locomotora) y depresión (e.g. inmovilidad). Un tratamiento que ha sido capaz de aminorar las respuestas de ansiedad y depresión es el EA.

El EA ha demostrado ser capaz de modificar los efectos neuroquímicos y conductuales de roedores. Un ejemplo de ello, es la disminución de los niveles de ansiedad en tareas espaciales como el campo abierto y el laberinto de cruz elevado. Tal como se describió, la ansiedad ha sido evaluada a través de parámetros de locomoción (e.g. distancias recorridas, número de cruzamientos entre zonas). Dicha actividad refleja la habilidad de adaptación de los sujetos a un medio ambiente novedoso. La incapacidad de habituarse a dicho ambiente se traduce como un estado de ansiedad elevado.

Una característica de las tareas espaciales es la autonomía que poseen los sujetos para trasladarse en el medio ambiente. Un problema que sugiere evaluar los patrones de locomoción es que los resultados dependen de la interpretación del experimentador y no de una serie de reglas previamente establecidas. Una posible solución a esta problemática es la adopción de tareas operantes que exigen el cumplimiento de criterios de respuesta específicos.

Tradicionalmente las tareas operantes han sido utilizadas para evaluar procesos psicológicos básicos desde la perspectiva conductual. Estas tareas permiten evaluar la interacción entre las respuestas del organismo y el medio ambiente a través de la modificación sistemática de este último.

Existe poca evidencia empírica que muestre los efectos del EA en tareas operantes. Posiblemente la escasa información se deba a que gran parte de las tareas operantes no están orientadas a evaluar las respuestas emocionales tal como lo hacen las tareas espaciales. Una tarea que es capaz de combinar las exigencias de una tarea operante con la evaluación de las respuestas emocionales es el contraste negativo sucesivo (CNS).

El CNS evalúa la disminución de la respuesta de los sujetos cuando se reduce inesperadamente el valor del reforzador en términos de calidad o cantidad. La devaluación

inesperada del reforzador genera que se produzca una violación de la expectativa consumatoria o instrumental, lo que a su vez genera una respuesta de frustración o ansiedad evaluada a través de la disminución abrupta de la respuesta en comparación a grupos control.

Es por lo anterior que el presente trabajo se diseñó con el propósito de evaluar los efectos del EA sobre las respuestas de ansiedad y frustración en un tarea de CNSc adaptada a un operando.

#### Método

# **Sujetos experimentales**

Se utilizaron un total de 36 ratas macho de la cepa Wistar experimentalmente ingenuas, criadas en el bioterio del Centro de Estudios e Investigaciones en Comportamiento (CEIC) de la Universidad de Guadalajara. El destete ocurrió al DPN21. A partir de este día los sujetos fueron asignados de manera aleatoria a dos condiciones (n=18): experimental (EXP) y control (CON). Cada una de ellas se dividió en tres grupos (i.e. EA, SOC y AIS), dando como resultado un total de seis subgrupos (n=6): EAEXP, EACON, SOCEXP, SOCCON, AISEXP, AISCON (ver Tabla 2).

Todos los grupos fueron mantenidos bajo condiciones ambientales controladas. La temperatura del cuarto donde se alojaban los sujetos se mantuvo en 22°C (±3°C), con ciclos de luz/obscuridad de 12 horas (luz a partir de las 7:00 a.m.). La intensidad de luz fue de 60 W. Para todos los grupos el cambio de cama se realizó aproximadamente cada 3 a 5 días. Se entregó alimento y agua ad libitum hasta el DPN55. A partir de este momento y hasta el termino del experimento, los sujetos fueron privados al 85% de su peso ad libitum. Todos

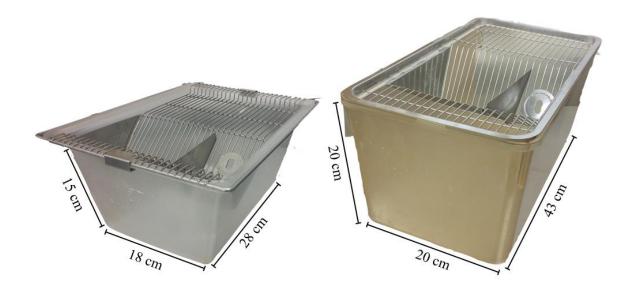
los sujetos fueron pesados diariamente antes y después de las sesiones experimentales. Las pruebas fueron realizadas en un horario de 7:00 a 15:00 hrs. Todos los experimentos fueron realizados de acuerdo a lo establecido por la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y aprobados por el comité de ética del CEIC.

## Condiciones de alojamiento

Las condiciones de alojamiento para los grupos EA y SOC fueron similares. Se asignaron 3 sujetos por caja (parte superior: 24 cm ancho x 46 cm largo; parte inferior: 20 cm ancho x 43 cm largo x 20 cm altura, superficie total 860 cm2; ver Figura 1) hasta el DPN59.

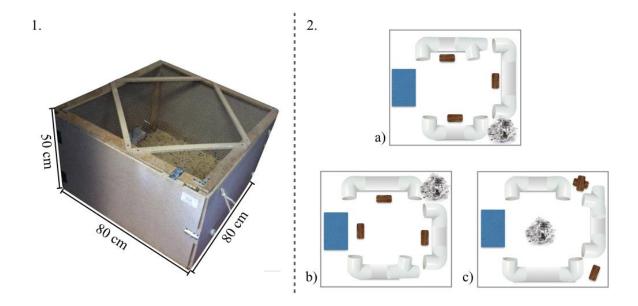
Los sujetos del grupo AIS se alojaron de manera individual a lo largo de todo el experimento. Las cajas del grupo AIS eran más pequeñas en relación a los otros grupos experimentales (Parte superior 23cm ancho x 33cm largo, parte inferior 18cm ancho x 28cm largo, altura 15cm, superficie 504cm2; ver Figura 1).

La exposición de los sujetos a EA ocurrió al inicio de la etapa prepuberal (DPN21) hasta el fin de la etapa adolescente (DPN59). Los sujetos de este grupo fueron trasladados de manera intermitente a una caja de enriquecimiento diseñada especialmente (80 cm ancho x 80 cm largo x 50 cm altura, superficie total 6,400 cm2; ver Figura 2.1). La caja de EA se encontraba en un cuarto negro de 120 cm x 120 cm. Los sujetos fueron trasladados a la caja de EA durante la fase de obscuridad. Por ello el cuarto se mantuvo iluminado con una luz infrarroja de 60 W en el transcurso de las sesiones.



**Figura 1. Cajas de alojamiento.** La imagen muestra las cajas de alojamiento que fueron utilizadas para cada una de las condiciones experimentales. Las dimensiones de las cajas para los grupos AIS fueron 18cm ancho x 28cm largo x 15cm altura, superficie 504cm<sup>2</sup>; mientras que para los grupos SOC y EA las dimensiones fueron 20cm ancho x 43cm largo x 20cm altura, superficie total 860cm<sup>2</sup>.

Los materiales utilizados en la caja de EA incluían una rueda de actividad para roedores (18 cm de diámetro x 6.35 cm de ancho), 3 tubos de PVC de 3" con codos a los extremos (50 cm de largo cada uno), material de nidificación (2 hojas de papel periódico trozadas en tiras de 1 cm de ancho aproximadamente), y 3 trozos de madera para roer (7 cm de largo x 5 cm de ancho x 1 cm de altura). En cada una de las sesiones, los materiales eran reasignados de lugar. La rueda de actividad fue la única que permaneció fija a lo largo de las sesiones. Se realizaron tres tipos de arreglos para los materiales (ver Figura 2.2). Los periodos de exposición a EA tenían una duración aproximada de 60 minutos cada tercer día. Los sujetos fueron expuestos a un total de 15 horas a lo largo de 15 sesiones. La hora de inicio de las sesiones de exposición a EA se aleatorizó sesión a sesión minimizando la ocurrencia de exposición en horarios repetidos. Las sesiones de exposición a EA ocurrieron entre las 9:00 y las 16:00 hrs. Al término de cada sesión se limpiaba la caja con un paño impregnado de una solución al 10% de alcohol.



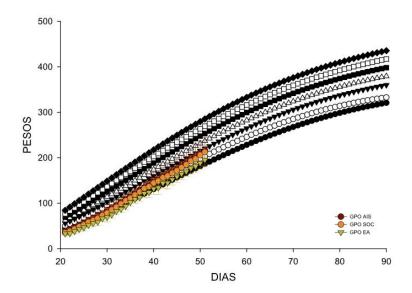
**Figura 2. 1) Caja de EA.** La caja se construyó a partir de placas de aglomerado de densidad media. Las dimensiones de la caja eran de 80 cm ancho x 80 cm largo x 50 cm altura con una superficie total 6,400 cm<sup>2</sup>. El techo estaba recubierto por una malla que permitió el intercambio del aire así como el acceso a la luz. El techo era abatible para permitir la introducción o retiro de los sujetos de la caja. La pared frontal podía abrirse para facilitar las labores de limpieza. La base de la caja contaba con cuatro ruedas para facilitar su reubicación en caso de ser necesario. **2) Arreglo del EA.** Para el protocolo de EA se contemplaron tres tipos de arreglo (2a, 2b, 2c). Para mantener la novedad en la caja de EA se reubicaron los materiales en cada sesión. Los sujetos fueron expuestos cinco veces a cada una de los arreglos.

Veinticuatro horas previas al inicio de las fases experimentales los sujetos del grupo EA y SOC fueron alojados de manera individual hasta el término del experimento. Dicha manipulación se realizó con el objetivo de aislar los efectos de historia (los efectos de la variable EA y SOC), y permitir un análisis comparativo de las ejecuciones entre todos los grupos experimentales.

#### Privación

Se ha descrito que las ratas de la cepa Wistar alcanzan su punto máximo de crecimiento al DPN120. En la presente investigación los sujetos fueron privados al DPN55 sin aún alcanzar el punto máximo de crecimiento. Para definir su peso *ad libitum* al 100% se utilizó una regresión no lineal ajustada a las curvas de crecimiento descritas por Cossio-Bolaños, Gómez Campos, Vargas Vitoria, Hochmuller Fogaça, y de Arruda (2013). La regresión

permitió ajustar y predecir los pesos esperados (peso *ad libitum* 100%) de cada uno de los sujetos tomando como base su peso inicial y edad. Habiendo establecido los valores de las curvas de crecimiento esperados por sujeto bajo condiciones de no privación, se determinó el consumo diario de alimento requerido para conseguir un peso *ad libitum* al 85% (ver Figura 3). La privación se mantuvo hasta el término del experimento.



**Figura 3. Ganancia promedio de peso por grupo.** La figura ejemplifica el procedimiento que se realizó para el cálculo de peso *ad libitum* de los sujetos experimentales. Los valores de las líneas negras y blancas representan las curvas de crecimiento descritas por Cossio-Bolaños, et al. (2013). Los valores de las líneas de color muestran el promedio de peso para cada una de las condiciones experimentales. Al cabo del día 55, se ajustaron los valores de peso de cada uno de los sujetos a la línea que mejor predecía la tasa de crecimiento. A partir de estos datos, los sujetos se privaron al 85% de su peso *ad libitum*.

#### **Aparatos**

Se utilizaron 8 cajas de condicionamiento marca MED Associates (ENV-008) con piso de rejilla de barras (ENV-005). Las cajas estaban equipadas con un dispensador de agua (ENV-202-RM) colocado en la parte central-inferior del panel operativo. El dispensador estaba equipado con una copa (ENV-202C-02) que daba acceso a 0.02 cc de agua. Las entradas al dispensador fueron registradas con un dispositivo de entradas de cabeza (ENV-254-CB). El registro de la respuesta ocurrió cada vez que el haz de luz infrarroja fue interrumpido. Al costado izquierdo del dispensador se colocó una palanca retráctil (ENV-

112CM) a una altura de 7 cm con respecto al piso de la caja. En la parte central del panel opuesto a una altura de 18 cm con respecto al piso de la caja se encontraba la luz general (ENV-215M) con un foco de 28v. Cada caja fue colocada dentro de una cámara de aislamiento acústico (ENV-022MD) con un ventilador (ENV-025F) como fuente de ruido blanco el cual facilitó la circulación de aire al interior de la caja. La recolección y el registro de eventos se realizaron a través de la interfaz MED-PC IV para Windows. La limpieza de las cajas se realizó al término de cada sesión experimental con un paño húmedo impregnado de una solución de alcohol al 10%.

#### **Pruebas conductuales**

Todos los sujetos fueron expuestos a una fase de adquisición, una fase de entrenamiento y una fase de prueba. Veinticuatro horas antes del inicio de la fase de adquisición los sujetos fueron pre expuestos a la solución de agua correspondiente a su condición durante un periodo de 40 minutos en sus cajas habitación para evitar efectos de neofobia. Todos los sujetos adquirieron y entrenaron la respuesta a la palanca con la concentración de agua azucarada a la cuál serían expuestos durante la primera etapa de la fase de prueba (ver Tabla 2 y 3).

A continuación se describen en detalle las características de cada una de las fases a las que se expusieron los sujetos.

#### Fase de adquisición (RF1/TF60, RF1).

Durante la fase de adquisición de respuesta los sujetos fueron expuestos a dos programas de reforzamiento: RF1/TF60 y RF1.

Todos los sujetos fueron sometidos a tres sesiones del programa RF1/TF60. Cada sesión tuvo una duración de 60 minutos. Al iniciar la sesión, la luz general se encendía, al

cabo de 60 segundos la palanca izquierda era activada por un periodo de 8 segundos, si el sujeto no respondía en este periodo la palanca se retraía e inmediatamente se hacía entrega de un reforzador. El dispensador de agua se activaba por 3 segundos haciendo entrega de 0.2cc de agua. Si el sujeto respondía durante los 8 segundos en que estaba presente la palanca, se entregaba un reforzador de manera inmediata. La sesión finalizaba al cabo de 60 ensayos.

Del total de 36 ratas, 20 de ellas (AIS CON n=3, SOC CON n=6, SOC EXP n=4, EA CON n=4, EA EXP n=3) no mostraron aprender la asociación entre la palanca y la entrega del reforzador. Para estos sujetos el moldeamiento de la respuesta a la palanca se realizó a través del reforzamiento diferencial por aproximaciones sucesivas (Skinner, 1953). En promedio los sujetos requirieron de tres sesiones de 30 minutos para adquirir la respuesta de presión a la palanca. Una vez que los sujetos mostraron al menos un total de 50 respuestas de presión a la palanca en las sesiones de reforzamiento diferencial, inició la fase del programa RF1.

Durante la fase de RF1, las sesiones daban inicio tras encender la luz general y activar la palanca izquierda. Si el sujeto presionaba la palanca se activaba el dispensador de agua por un periodo de 3 segundos. Tras concluir este periodo, el dispensador de agua se apagaba. El programa continuaba por un periodo máximo de 30 minutos o bien la sesión concluía tras la entrega de 100 reforzadores. Si los sujetos lograban un total de 100 respuestas reforzadas por 3 días consecutivos, continuaban con la siguiente fase.

## Fase de entrenamiento (IV5, IV15, IV25).

Durante la fase de prueba los sujetos fueron expuestos a un programa IV30. Para lograr mantener una respuesta estable a lo largo de dicha fase, la fase de entrenamiento tuvo la finalidad de incrementar de manera progresiva los valores del intervalo variable (IV).

Los valores utilizados para la fase de entrenamiento fueron los siguientes: IV5, IV15, IV25. Al iniciar la sesión la luz general se encendía y la palanca izquierda se activaba. De manera aleatoria el programa elegía uno de los valores del IV (Ver Tabla 1). Si el sujeto presionaba la palanca dentro del tiempo establecido por el programa, se hacía entrega de un reforzador de manera inmediata. Las sesiones de la fase de entrenamiento finalizaban tras la entrega de 100 reforzadores contingentes o bien 60 minutos. Al igual que en el programa RF1, los sujetos podían continuar a la siguiente fase si conseguían obtener 100 reforzadores por 3 sesiones consecutivas.

**Tabla 1. Valores del IV.** En la tabla se muestran los valores en segundos para cada uno de los ensayos de los programas IV. Todos los valores fueron elegidos por el programa de manera aleatoria en la fase de entrenamiento y prueba.

Programa	a	Valores del IV (seg.)								
IV5	26	82	144	216	300	400	527	697	958	1651
IV15	78	245	433	648	899	1201	1580	2090	2874	4954
IV25	129	408	721	1079	1498	2001	2633	3483	4791	8256
IV30	155	489	865	1295	1798	2402	3160	4179	5749	9908

# Fase de prueba IV30 (Pre cambio, Post cambio, Redeterminación y Extinción).

El objetivo de la fase de prueba fue adaptar la tarea de CNSc a la caja operante. En lugar de presentar una pipeta como comúnmente se realiza en la tarea de CNSc, se presentó una palanca que operaba en un programa IV30.

La fase de prueba incluyó cuatro diferentes etapas. La etapa de pre cambio (PRE), post cambio (POST), redeterminación (RED) y extinción (EXT). La diferencia entre dichas etapas estaba determinada por la cualidad del reforzador entregado.

En la etapa de pre cambio los grupos de la condición EXP recibieron como reforzador una solución azucarada al 32%, mientras que los sujetos de la condición CON recibieron una solución azucarada al 4%. En la etapa post cambio se redujó el valor del reforzador a un valor distinto al cero (devaluación). Los grupos EXP, experimentaron una devaluación en el valor del reforzador de 32% a 4%. Los valores se conservaron para los sujetos de los grupos CON (4%). En la etapa de redeterminación todos los grupos fueron expuestos a una solución de 32% de agua azucarada. Por último, durante la etapa de extinción, el valor del reforzador se redujo a cero para ambas condiciones.

Al igual que en las fases previas, los sujetos debían cumplir con un criterio de finalización para continuar de etapa. Para considerar que se había cumplido el criterio de estabilidad y logro en las etapas de pre cambio y redeterminación se debieron comparar los resultados de las sesiones de la siguiente manera: 1) el resultado de la última sesión no debía variar ± 10% del promedio de las 5 sesiones previas; 2) el promedio de las últimas 3 sesiones no debía variar ± 10% del promedio de las 3 sesiones previas; y por último, 3) se realizaba una inspección visual para corroborar que los datos no mostraban una tendencia de incremento o disminución. Para poder realizar dicha evaluación se utilizó el programa Stability check propuesto por Costa & Cançado (2012). Las etapas de post cambio y extinción finalizaban tras completar 15 y 5 sesiones, respectivamente.

Se consideró que un máximo de 60 sesiones sin lograr el criterio de estabilidad eran suficientes para eliminar a los sujetos del experimento. De esta forma, se eliminaron un total de 4 sujetos (i.e. AIS CON n=3, SOC EXP n=1).

## Diseño Experimental

**Tabla 2. Fase de Adquisición y Entrenamiento**. RF1= Razón Fija 1; TF60= Tiempo Fijo 60seg; IV5= Intervalo Variable 5seg; IV15= Intervalo Variable 15seg; IV25= Intervalo Variable 25seg; A.A.= Agua Azucarada; E<sup>r</sup>=Reforzadores; TR= Tasa de Respuesta.

Grupo	Subgrupos	ento							
		RF1/TF60	RF1	IV5	IV15	IV25			
EXP	EA								
	SOC	32% A.A.							
	AIS								
CON	EA								
	SOC	4% A.A.							
	AIS								
Criterios de logro		1 sesión (30 min)	100 E <sup>r</sup> x 3 ses 30 min <sup>2</sup>		100 E <sup>r</sup> x 3 sesiones ó 60 min*				

<sup>\*</sup> Después de 20 sesiones el criterio de logro se modificó: E<sup>r</sup> obtenidos no podían variar ± 10% del 50% de los E<sup>r</sup> programados durante tres sesiones.

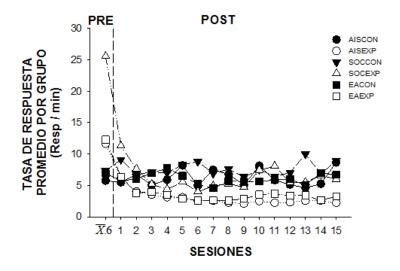
**Tabla 3. Fase de Prueba.** IV30= Intervalo Variable 30seg; Red.= Redeterminación; A.A.= Agua Azucarada; S/ E<sup>r</sup>=Sin entrega de reforzador; TR= Tasa de Respuesta.

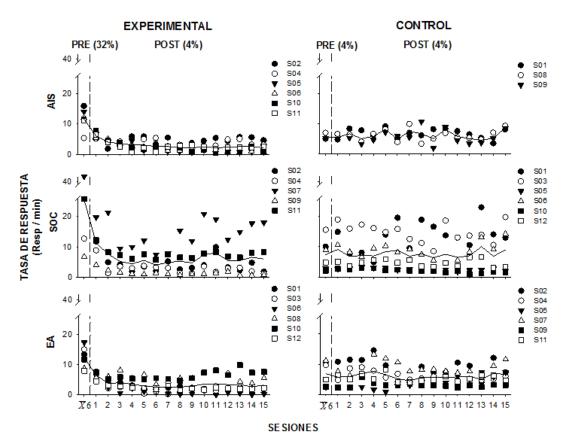
		Fase de Prueba					
Grupo	Subgrupos	Pre cambio (IV30)	Post cambio (IV30)	Red. (IV30)	Extinción (IV30)		
	EA						
EXP	SOC	32% A.A.	4% A.A.	32% A.A.	S/E <sup>r</sup>		
	AIS						
	EA				<b>- r</b>		
CON	SOC	4% A.A.	4% A.A.	32% A.A.	S/E <sup>r</sup>		
	AIS						
		TR no varíe ±		TR no varíe ±			
Criterio de		10% del promedio	15	10% del promedio	5 sesiones		
estabilidad y logro		de las últimas 3	sesiones	de las últimas 3	2 Sesiones		
		sesiones		sesiones			

## Resultados

El análisis de los resultados se centra principalmente en la tasa de respuesta pues es una medida que puede compararse con el tiempo de bebida que comúnmente se reporta en los procedimientos de CNSc.

La Figura 4 muestra el efecto de contraste negativo sucesivo (CNS). La gráfica ubicada en la parte superior central representa la tasa de respuesta promedio por minuto de cada uno de los grupos durante la transición de PRE a POST. Las graficas en la parte inferior representan el desempeño de cada uno de los sujetos durante la transición de la fase PRE a POST. Los gráficos de la columna izquierda representan los grupos EXP mientras que la columna derecha representa a los grupos CON. En las graficas superiores de este conjunto se concentran los datos de los grupos AIS, en la sección central los grupos SOC y en la parte inferior los grupos EA. La línea continua representa el promedio de la tasa de respuesta del grupo. La línea discontinua representa el final de la fase PRE y el inicio de la fase POST. Los datos graficados en la fase PRE equivalen al promedio de las últimas 6 sesiones de la fase. Los datos graficados en la fase POST corresponden a la ejecución de cada uno de los sujetos para cada una de las 15 sesiones de la fase. Para todos los grupos se realizó un corte longitudinal en la fracción del eje de las ordenadas entre el punto 26 y 37 para resaltar las ejecuciones de los sujetos. Ningún dato fue eliminado de las gráficas.





**Figura 4. Contraste Negativo Sucesivo.** Las graficas muestran el descenso en la tasa de respuesta para cada uno de los sujetos de las condiciones EXP de las fases PRE y POST. La gráfica superior representa el promedio de la tasa de respuesta por grupo. El conjunto de gráficas en la parte inferior muestra la ejecución de los sujetos en cada una de las condiciones experimentales. Los datos graficados para la fase PRE representan el promedio de las últimas 6 sesiones. Los datos de la fase POST son los valores absolutos que cada uno de los sujetos obtuvo a lo largo de las sesiones. La línea continua representa el promedio por grupo. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas en la fase POST, sin embargo se encontraron diferencias significativas (p<0.05) en la fase PRE.

Como se puede observar en el conjunto de gráficos, la ejecución de los grupos CON muestra que la tasa de respuesta permanece estable a lo largo de la sesiones de la fase POST ( $\overline{X}$ = 6.62 resp/min) manteniendo ejecuciones similares a la fase PRE ( $\overline{X}$ = 6.67 resp/min). La tasa de respuesta promedio para el grupo AISCON fue de 6.21 resp/min, para el SOCCON 7.64 resp/min y para el EACON 6.02 resp/min. Los datos del grupo SOCCON sugieren una mayor variabilidad en la ejecución de los sujetos, sin embargo el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre los grupos de esta condición.

Para las condiciones EXP se puede observar un agudo efecto de contraste negativo a través del descenso en la tasa de respuesta cuando la magnitud del reforzador cambia de 32% a 4%. Al contrario de los grupos CON en donde la diferencia entre la fase PRE y POST sólo fue de 0.7%, el promedio de la tasa de respuesta para la condición EXP disminuyó un 74%. En el caso del grupo AISEXP la tasa de respuesta promedio disminuyó un 74.92%, de niveles cercanos a 11.64 resp/min hasta niveles de 2.92 resp/min. En el caso de los sujetos SOCEXP la tasa de respuesta promedio bajó cerca del 76%, de niveles cercanos a 25.55 resp/min hasta alcanzar niveles de 6.13 resp/min. Por último la tasa de respuesta promedio del grupo EAEXP disminuyó un 72.22%, de valores cercanos a 12.27 resp/min hasta 3.40 resp/min.

Aunque la función del grupo SOCEXP sugiere que la tasa de cambio entre la fase PRE-POST es mayor en comparación a los grupos AISEXP y EAEXP los estadísticos no mostraron diferencias significativas. Los datos muestran que a partir de la tercera sesión la tasa de respuesta se mantiene estable para todos los grupos EXP.

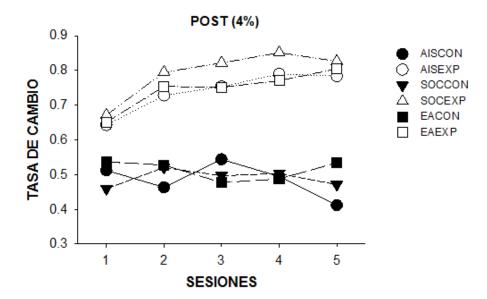
A excepción de la rata S07 del grupo SOCEXP ningún otro sujeto muestra una tendencia a regresar a los valores iniciales mostrados en la fase PRE. Un análisis más detallado de la ejecución de este sujeto a lo largo de la fase POST, muestra que en

promedio la tasa de respuesta se encuentra por debajo del 68% de los valores que presentó en la fase PRE. De esta manera se puede afirmar que todos los grupos presentaron valores estables en la fase POST.

Para conocer si existían diferencias entre los grupos por fase se aplicó la prueba no paramétrica de medianas de muestras independientes. La prueba no mostró diferencias para la condición POST; sin embargo se reconocieron diferencias significativas entre los grupos en la fase PRE ( $\chi^2$  (5, 32)=11.467, p = 0.043). El análisis post hoc de comparaciones por parejas permitió reconocer diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05) entre los grupos AISEXP y SOCEXP con todas las condiciones CON. En el caso del grupo EAEXP sólo se encontraron diferencias significativas (p < 0.05) con el AISCON. No se encontraron diferencias entre los demás pares de grupos.

Debido a las diferencias grupales en la tasa de respuesta presentes en la fase PRE se analizó la tasa de cambio de la fase PRE-POST adaptando la fórmula propuesta por Cuenya et al. (2012) a los datos del estudio: promedio de las últimas 6 sesiones de PRE / (promedio de las últimas 6 sesiones de PRE + la primer sesión de POST).

La Figura 5 muestra la tasa de cambio a lo largo de las primeras 5 sesiones de la fase POST. En la gráfica se puede observar la tasa de cambio promedio por grupo. El eje de las ordenadas representa la tasa de cambio en una escala de 0 a 1. Es importante considerar que los valores cercanos al 0.5 indican que no hubo cambios en la tasa de respuesta, aquellos por encima del 0.5 indican una baja tasa de respuesta y los valores por debajo del 0.5 indican altas tasas de respuesta. En el eje de las abscisas se representan las primeras 5 sesiones de la fase POST.



**Figura 5. Tasa de cambio fase POST.** La gráfica muestra la tasa de cambio para cada grupo en las primeras 5 sesiones de la fase POST. No se observan cambios en grupos CON. Los datos del grupo EXP muestran una continua disminución de la tasa de respuesta a lo largo de las sesiones. El análisis estadístico mostró diferencias significativas (p<0.05) entre los grupos SOCEXP y EAEXP en comparación a sus grupos CON y una diferencia marginal entre el grupo AISEXP y AISCON a lo largo de las sesiones.

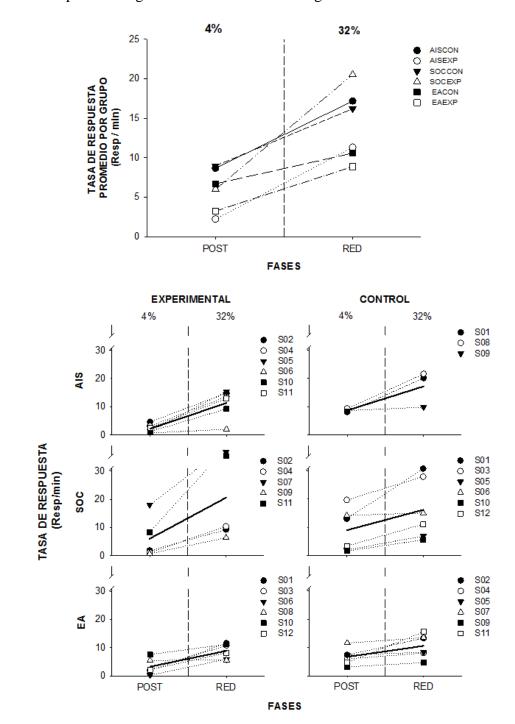
En general se puede observar que los grupos CON mantuvieron las mismas tasas de respuesta a lo largo de la fase POST obteniendo un promedio de 0.496. Todos los grupos EXP muestran una devaluación similar pues los valores de la tasa de cambio en la primer sesión se encuentran cercanos a 0.65. Todos los grupos continuaron disminuyendo su tasa de respuesta a lo largo de la fase POST alcanzando valores promedio de 0.8.

La prueba de medianas de muestras independientes mostró un efecto significativo entre los grupos en cada una de las sesiones: Sesión 1 ( $\chi^2$  (5, 32)=22.133, p = 0.001), sesión 2 a 5 ( $\chi^2$  (5, 32)=22, p = 0.001). El análisis post hoc de comparaciones por parejas mostró diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05) en cada una de las sesiones. Se puede resumir que a lo largo de las 5 sesiones los grupos SOCEXP y EAEXP fueron estadísticamente diferentes (p < 0.05) a sus respectivos controles (SOCCON y EACON). En el caso del grupo AISEXP se encontró una diferencia marginal de p = 0.058 a lo largo

de las 5 sesiones de la fase POST en comparación al grupo AISCON. La prueba no mostró diferencias significativas entre los grupos EXP a lo largo de las sesiones. En el caso de los grupos CON, el par EACON vs SOCCON no mostró diferencias a lo largo de las 5 sesiones. Para el par EACON vs AISCON se encontró una diferencias marginal (p = 0.058) en la quinta sesión, sin embargo a lo largo de las primeras 4 sesiones no se encontraron diferencias significativas. Diferencias similares se encontraron entre los grupos SOCCON y AISCON. Estos grupos mostraron diferencias en la primer sesión de la fase POST (p<0.05) y se encontró una diferencia marginal de p = 0.058 en la quinta sesión. Entre las sesiones 2 y 4 no se muestran diferencias significativas. Realizando una comparación entre todos los grupos de la condición EXP y los grupos CON, la mayoría de los grupos mostraron diferencias estadísticas significativas (p < 0.05). El único par que obtuvo una diferencia marginal (p = 0.058) fueron los grupos EAEXP vs AISCON.

La Figura 6 muestra el efecto de contraste positivo que ocurrió al incrementar la magnitud del reforzador de la fase POST (4%) a la fase de RED (32%) en todos los grupos. La disposición de las gráficas es similar a la presentada en la Figura 4. Se muestra una gráfica con el promedio de los grupos en la parte superior al centro de la figura y un conjunto de gráficas ubicadas en la parte inferior que describen las ejecuciones de cada uno de los sujetos por grupo. El conjunto de gráficas esta ordenado en columnas de acuerdo a las condiciones (EXP y CON) y en orden descendente en relación al grupo (AIS, SOC y EA). Las líneas discontinuas representan el final de la fase POST y el inicio de la fase RED. Las líneas punteadas representan la trayectoria en incremento de la tasa de respuesta promedio para cada sujeto y la línea continua representa el promedio del grupo. Similar a la Figura 4, se realizó un corte longitudinal en el eje de las ordenadas entre los puntos 31 a 38,

con el objetivo de destacar el efecto de contraste positivo. La escala de todos los gráficos va de 0 a 40 resp/min. Ningún dato fue omitido de las gráficas.



**Figura 6. Contraste Positivo.** La gráfica muestra el efecto de contraste positivo que tuvo lugar al incrementar la magnitud del reforzador de 32% a 4% de la fase POST a la fase de RED, respectivamente. La gráfica superior representa el promedio de la tasa de respuesta promedio por grupo. El conjunto de gráficas en la parte inferior muestra la ejecución por sujeto en cada una de las condiciones. Las pruebas estadísticas no mostraron diferencias significativas entre los grupos o fases.

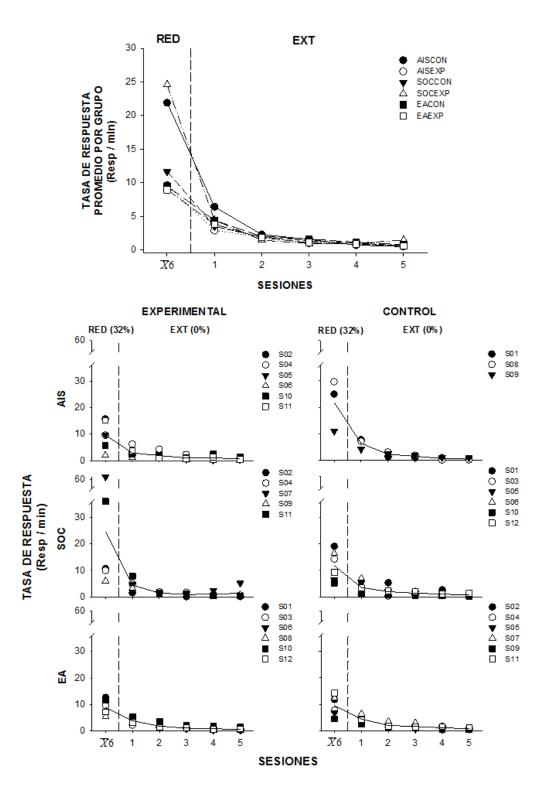
Como se puede observar en esta figura, todos los grupos mostraron un efecto de contraste positivo. Para los grupos de la condición EXP hubo un incremento promedio del 71.4%. En el caso del grupo AISEXP el incremento fue del 80.33%, para el grupo SOCEXP de 70.78% y para el EAEXP fue de 63.35%. El incremento promedio de los grupos CON fue de 43.66%. En el caso del grupo AISCON fue de 49.59%, para el grupo SOCCON 44.64% y por último el grupo EACON fue de 36.74%. A pesar de que el porcentaje de incremento en la tasa de respuesta parece indicar diferencias entre los grupos, las pruebas estadísticas no mostraron diferencias significativas.

La Figura 7 muestra la disminución en la tasa de respuesta como efecto de la fase de extinción. La gráfica superior muestra el promedio de la tasa de respuesta en cada uno de los grupos entre la fase de RED (32%) y la fase de EXT (4%). El conjunto de gráficas en la parte inferior permiten observar la ejecución de los sujetos en cada una de las condiciones. La columna derecha representa los grupos EXP, en la columna izquierda se agrupa la condición CON. De arriba hacia abajo se ubican los grupos de acuerdo al tipo de alojamiento, AIS, CON y EA, respectivamente. La línea discontinua que atraviesa el eje de las ordenadas representa el fin de la fase RED y el inicio de la fase EXT. La línea continua representa el promedio de grupo. El eje de las ordenadas representa la tasa de respuesta por minuto. En este eje se realizó un corte transversal entre los puntos 36 y 59. Ningún dato fue omitido de las gráficas. El eje de las abscisas representa las sesiones. Los datos graficados para la fase RED equivalen al promedio de las últimas 6 sesiones. Los datos en EXT representan los valores absolutos para cada una de las sesiones en cada uno de los sujetos.

En general se puede observar que todos los sujetos disminuyeron su tasa de respuesta inmediatamente después de haber retirado el reforzador. En promedio los grupos AIS y SOC de ambas condiciones (CON y EXP) mostraron una disminución de la tasa de

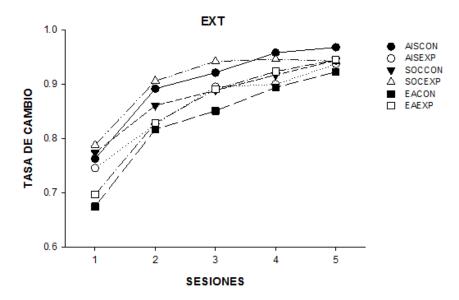
respuesta hasta en un 73.15% durante la primer sesión de la fase de EXT. Para el grupo AISEXP la tasa de respuesta disminuyó 69.94%, para el AISCON fue de 70.68%, el SOCEXP fue de 81.95% y por último el SOCCON fue de 70.01%. Los grupos EA en ambas condiciones mostraron una diferencia de 20 puntos porcentuales en comparación a los grupos SOC y AIS. La tasa de respuesta en los grupos EA disminuyó en promedio 55.55%. Para el grupo EAEXP la tasa de respuesta disminuyó 57.27% y para el grupo EACON fue un 53.83%. En general los grupos de la condición EXP tuvieron una caída promedio del 69.72% y los grupos CON experimentaron una disminución del 64.84% durante la primer sesión de la fase de EXT. Al final de la fase de EXT los grupos de ambas condiciones (CON y EXP) disminuyeron su tasa de respuesta en promedio hasta en un 94.36% con respecto a la tasa de respuesta mostrada en la fase de RED. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre los grupos o entre las sesiones.

Para descartar que la ausencia de diferencias entre los grupos y sesiones pudieran deberse a un posible efecto de piso, se calculó la tasa de cambio de la misma forma que se calculó en la Figura 4.



**Figura 7. Tasa de respuesta promedio en extinción.** La gráfica superior muestra la tasa de respuesta promedio por grupo en la fase de EXT. El conjunto de gráficas en la parte inferior muestra la disminución de la tasa de respuesta promedio por sujeto entre la fase de RED y EXT. Los datos graficados en la fase de RED representan el promedio de las últimas 6 sesiones. Los datos graficados en la fase de EXT representan los valores absolutos de cada uno de los sujetos por sesión. La línea discontinua representa el final de la fase de RED y el inicio de la fase de EXT. La línea continua representa el promedio del grupo. Los análisis estadísticos no mostraron diferencias estadísticas en ninguno de los grupos o sesiones.

La Figura 8 representa la tasa de cambio promedio por grupo en la fase de EXT. Al igual que en la Figura 5, el eje de las ordenadas muestra la tasa de cambio en una escala de 0 a 1 y el eje de las abscisas las 5 sesiones de la fase de EXT. Las mismas consideraciones se deben tomar en cuenta al leer esta gráfica, entre más cercanos se encentren los valores a 1, significa que los niveles de la tasa de respuesta fueron bajos, entre más cercanos a 0.05 significa que no hubo cambios con respecto a la fase previa y niveles cercanos a 0.1 indican altas tasas de respuesta.



**Figura 8. Tasa de cambio fase EXT.** La gráfica muestra la tasa de cambio para cada grupo en las primeras 5 sesiones de la fase EXT. Los datos de los grupos CON y EXP son similares y no se muestran diferencias entre ninguno de los sujetos de ninguno de los grupos. Los datos permiten observar una caída abrupta tras la primera sesión de EXT para todos los grupos por igual. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas.

La gráfica confirma los resultados descritos en la Figura 7 y se observa que las tasas de respuesta disminuyen aceleradamente en cuanto se retira el reforzador durante la fase de EXT. La tasa de cambio promedio para todos los grupos es de 0.74 en la primer sesión de EXT. Los datos de la tasa de cambio en la primer sesión de EXT muestran que los grupos EA de ambas condiciones (CON y EXP) se encuentran cercanos a valores de 0.68 mientras que los todos los grupos AIS y SOC rebasan los valores de 0.75. Los análisis estadísticos

no muestran diferencias significativas en la tasa de cambio entre la fase de RED y EXT para ninguno de los grupos.

El incremento en la tasa de cambio ( $\overline{X}$ =0.1) durante la segunda sesión de la fase de EXT fue similar en todos los grupos. A partir de este punto el incremento en la tasa de cambio ocurre en menor proporción en cada sesión (S3=0.04, S4=0.024, S5=0.020) hasta alcanzar valores promedio de 0.94 para todos los grupos en la quinta sesión de la fase. El análisis estadístico no mostró diferencias entre los grupos ni entre las sesiones de la fase EXT.

## Discusión

El presente estudio tuvo como objetivo conocer si el alojamiento diferencial de sujetos (AIS, SOC y EA) era una variable capaz de alterar el CNS en ratas de la cepa Wistar.

La hipótesis que guió este trabajo de investigación sugería que los sujetos alojados en ambientes enriquecidos serían capaces de aminorar el efecto de contraste negativo, y por lo tanto los valores de la tasa de respuesta se verían afectados en menor proporción que en los grupos SOC y AIS.

La literatura sugiere que el AIS incrementa la ansiedad a causa de un continuo estrés (Beery & Kaufer, 2015; Sandi & Haller, 2015; Valzelli, 1973). Por otra parte, el EA ha demostrado aminorar los efectos del AIS debido a la exposición a una amplia diversidad de estímulos durante las etapas tempranas. Gran parte de estos hallazgos han sido reportados en tareas espaciales (Brenes et al., 2008; Mora-Gallegos et al., 2015).

La mayor parte de las tareas espaciales evalúan los estados de ansiedad a partir de patrones de locomoción, tales como el cruzamiento de zonas o tiempos de estadio (Kumar

et al., 2013). Pocos trabajos han reportado los efectos del EA en tareas cuyo requisito exigen el cumplimiento de un criterio de respuesta específico.

Un procedimiento que se ha reconocido capaz de evaluar los efectos de ansiedad y frustración a través de la devaluación inesperada del reforzador es el CNS (Cuenya et al., 2011, 2012; Papini et al., 2015). Sí el CNS evalúa ansiedad y frustración y el tipo de alojamiento es capaz de modular las respuestas de ansiedad entonces, se esperaría que entre mayor exposición a condiciones físicas y sociales (EA), menores serán los efectos en una tarea de contraste negativo sucesivo.

El efecto de CNS ocurre cuando la devaluación inesperada del reforzador (cualidad o cantidad) modifica la conducta de los sujetos generando una disminución aguda de la respuesta (e.g. tiempos de consumo o tiempos de recorrido). Una regla para poder hablar de CNS es que la caída de la respuesta debe sobrepasar los límites de los grupos control que siempre fueron expuestos al mismo tipo de reforzador (Papini, 2002, 2003, 2006, 2014).

Los resultados permiten observar que todos los sujetos de los grupos EXP mostraron un claro efecto de CNS al haber disminuido de manera abrupta la tasa de respuesta por debajo de los niveles de los grupos control en las fases PRE-POST. Estos resultados son consistentes con los descritos en tareas de CNSc y CNSi en donde la modificación de la cualidad o calidad del reforzador genera una disminución de la respuesta consumatoria o instrumental. Por lo tanto, los resultados muestran que hubo una adecuación exitosa del procedimiento de CNSc a los parámetros involucrados en la tarea operante utilizada en nuestro laboratorio, pues incluso aun cuando se establece un criterio de respuesta distinto al comúnmente reportado los efectos son replicados.

A pesar de que en la literatura se ha reportado que los cambios inesperados en la magnitud y cualidad del reforzador generan un efecto de contraste en tareas consumatorias

(CNSc) o en tareas instrumentales adaptadas a un corredor o brazo de laberinto en ensayos discretos (CNSi), no se encuentran los mismos resultados cuando se usan tareas que implican diferentes topografía de respuesta (presión de palanca en ensayos continuos)<sup>4</sup>.

En los resultados reportados por Sastre, Lin, y Reilly (2005, Exp. 1), utilizando una tarea operante en donde exponen a sujetos a un programa de razón fija en incremento (RF1, RF3 y RF5), se observa un efecto de CNS invertido. El efecto invertido se describe como el ajuste gradual en la ejecución de los sujetos en lugar del cambio abrupto ante la reducción en la magnitud del reforzador. El ajuste gradual se entiende como el mantenimiento de la respuesta sin cambios ante la disminución del reforzador durante las primeras sesiones. Cuando hay CNS invertido se observa que al cabo de un número suficiente de sesiones (entre 2 y 3) la tasa de respuesta de los sujetos de los grupos experimentales (expuestos a la devaluación) iguala los valores del grupo control. Sin embargo, nunca presenta tasas inferiores respecto a los controles (Papini, 2014).

Los resultados de este trabajo se parecen más a los reportados en las tareas de CNSc y CNSi que a las tareas de CNSo, pues se observa un efecto claro de CNS y no un efecto de CNS invertido. Una de las razones por las cuales no se encontró un efecto de CNS invertido se debe a que el efecto invertido es dependiente de las propiedades del reforzador; específicamente del valor cuantitativo de este (Pellegrini & Papini, 2007; Sastre et al., 2005). Por ejemplo, la entrega de 5 pellets de sacarosa en la fase PRE incrementa la pausa post-reforzamiento, lo que a su vez reduce la oportunidad de responder, esto se traduce en una menor tasa de respuesta en comparación con la entrega de 1 pellet en la fase POST, el

4

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Por cuestiones de claridad de ahora en adelante se hará referencia a tareas consumatorias (CNSc) aquellas que exponen a los sujetos al consumo de una solución a través de una pipeta y se miden tiempos de consumo en sesiones; tareas instrumentales (CNSi) aquellas que usan corredores o brazos de laberintos en ensayos discretos y tareas operantes (CNSo) a aquellas que usan palancas y ensayos continuos.

cual reduce las pausas post-reforzamiento e incrementa la probabilidad de responder, lo que generaría una mayor o igual tasa de respuesta y con esto un efecto de CNS invertido. Debido a que en el presente trabajo se modificó el valor cualitativo del reforzador la probabilidad de encontrar un efecto de CNS invertido era menor.

Otra de las posibles razones por la cuales no se encontró un efecto de CNS invertido pudo deberse a los parámetros definidos en las tareas de CNSo. La principal diferencia entre el trabajo de Sastre et al., (2005) y el presente estudio es el programa de reforzamiento al que se expuso a los sujetos. Sastre et al. (2005) utilizó un programa de razón fija, mientras que en el presente estudio se utilizó un programa de reforzamiento variable (IV30). En un programa de reforzamiento continuo el número de reforzadores obtenidos puede ser compensado por la tasa de respuesta de los sujetos, lo que podría generar que la tasa de respuesta incremente o se mantenga en niveles similares a los obtenidos en la fase PRE. En cambio en el programa de IV utilizado en este experimento, la restricción temporal no permite que los sujetos aumenten la tasa de reforzamiento por encima del valor programado al aumentar la tasa de respuestas. Razón por la cual se observó el efecto de CNS y no un efecto de CNS invertido.

Existe poca evidencia que muestra los efectos de CNS en una tarea de CNSo, la mayoría de los trabajos reportan efectos de CNS invertido o incluso nulos (Pellegrini, López Seal, & Papini, 2008; Pellegrini & Papini, 2007). El único trabajo que ha sido reportado como capaz de replicar el efecto de CNS con una tarea operante es el de Weinstein (1970). El autor expuso a 20 ratas a un programa de reforzamiento fijo, en donde cada presión a la palanca permitía el acceso a una pipeta con una solución al 16% o 4% de agua azucarada. Los resultados muestran que los sujetos expuestos a una solución de 16% a lo largo de la fase PRE disminuyen de manera abrupta el promedio de respuestas

inmediatamente después de devaluar la cualidad del reforzador a una solución del 4% en comparación con los grupos control. Estos resultados son similares a los reportados en el presente experimento.

A pesar de que todos los sujetos de los grupos EXP mostraron un efecto de CNS consistente, parece ser que el alojamiento diferencial no genera cambios en las tasa de respuestas en ninguno de los grupos. Estos resultados no apoyan la hipótesis planteada inicialmente la cual suponía que los sujetos de los grupos EA mostrarían una menor reducción en la tasa de respuesta en comparación a los grupos SOC y AIS. Algunos aspectos metodológicos pueden dar cuenta de la igualdad de los resultados entre los grupos EXP.

Es importante mencionar que un efecto comúnmente reportado en las tareas de CNS es el incremento de la respuesta de los grupos EXP a niveles similares mostrados por los grupos CON en las sesiones subsecuentes de la fase POST. Tal como muestran los resultados, ningún grupo de la condición EXP mostró un incremento en la tasa de respuesta promedio a lo largo de la fase POST. Su ausencia no es motivo para contradecir el efecto de CNS.

El diseño experimental permitió evaluar los efectos del EA ante la reducción del reforzador en una condición de devaluación media (32%-4%, fases PRE-POST) y una devaluación extrema (32%-0%, fases RED-EXT). El experimento se diseñó de esta manera considerando la posibilidad de no encontrar diferencias en las fases PRE-POST. La condición de EXT podría ser una condición de prueba mas "extrema" en la que se podrían encontrar diferencias entre los grupos no perceptibles en una devaluación 32%-4%.

Los resultados permiten observar que la tasa de respuesta de todos los sujetos en todas las condiciones disminuye de manera abrupta en la primer sesión de la fase de EXT (la

extinción se puede considerar una forma máxima de devaluación en la cualidad del reforzador de 32% a 0%). Estos resultados son consistentes con los trabajos comúnmente reportados en el área de extinción en donde la omisión del reforzador genera una disminución abrupta de la respuesta (*c.f.* Delamater & Westbrook, 2014).

Al comparar los resultados de los grupos AIS, SOC y EA de la condición CON (sin historia de devaluación previa) no se muestran diferencias estadísticamente significativas en la tasa de respuesta o en la tasa de cambio en ninguno de los sujetos. Resultados similares se observan al comparar las ejecuciones de los grupos AIS, SOC y EA de la condición EXP (expuestos a devaluación en fase PRE-POST) a lo largo de las sesiones de la fase EXT. Esto sugiere que la historia de exposición a distintas cualidades del reforzador parece no generar un efecto diferencial en la fase de EXT. La ausencia de diferencias no permite apoyar la hipótesis de que el alojamiento diferencial puede modificar los efectos de una devaluación "extrema" como la extinción.

Una posible explicación de la ausencia en las diferencias de los grupos AIS, SOC y EA puede estar relacionada con algunos aspectos metodológicos. Aquel que considero de mayor relevancia está relacionado a las características del protocolo de EA.

La ausencia de un protocolo de EA estandarizado es uno de los problemas más reportados en el área (Balcombe, 2006; Baumans, van Loo, & Pham, 2010; Fischer, 2016; Nithianantharajah & Hannan, 2006; Simpson & Kelly, 2011). Las múltiples características como el tamaño de la caja de alojamiento, los objetos que constituyen el ambiente, la edad de los sujetos al momento de exposición y el tiempo de exposición son algunas variables que complican su estandarización.

En el presente trabajo se procuró un exhaustivo cuidado de las variables extrañas y se intentó incluir los aspectos más sobresalientes del protocolo de EA. En un afán por

controlar las variables extrañas se cometió un error que pudo afectar los resultados del experimento. Una de las necesidades primordiales era conocer si los efectos de historia de los sujetos como resultado de un alojamiento particular era capaz de afectar el CNS. Tal como se ha descrito el alojamiento de los sujetos durante etapas tempranas del desarrollo genera efectos benéficos en la conducta de los sujetos (Mora-Gallegos et al., 2015; Nithianantharajah & Hannan, 2006; Simpson & Kelly, 2011). Desafortunadamente los resultados que soportan esta hipótesis no permiten reconocer si las mejoras conductuales son consecuencia de una historia particular o si son resultado de la continua exposición a EA. La mayor parte de los trabajos exponen a los sujetos a las tareas conductuales mientras el protocolo de EA permanece vigente (Brenes et al., 2008; Mora-Gallegos et al., 2015; Mosaferi, Babri, Ebrahimi, & Mohaddes, 2015; Simpson & Kelly, 2011; Soares et al., 2015). Esto entorpece la comprensión de los mecanismos subyacentes del EA en las distintas tareas conductuales. La necesidad que se generó por comprender y esclarecer dichos mecanismos sumado a una hipótesis latente en el área, la cual sugiere que los efectos del EA perduran en el tiempo (Fuchs et al., 2016), condujo a aislar a todos los sujetos experimentales un día antes del comienzo de las fases experimentales. Posiblemente este fue uno de los errores de más trascendencia en el presente trabajo. Se puede pensar esto pues además de los efectos "negativos" que han sido reportados en el área de AIS (Beery & Kaufer, 2015; Haller et al., 2014; Hatch et al., 1963; Lapiz et al., 2003; Sandi & Haller, 2015), parece ser que la interrupción del EA genera un marcado fenotipo conductual y fisiológico relacionado con un estado de depresión en roedores (Smith et al., 2017). El trabajo de Smith et al., (2017) es uno de los pocos trabajos que evalúa el efecto que se genera al privar a los sujetos de EA. Los principales hallazgos de esta investigación sugieren que al privar a los sujetos de EA se incrementa la inmovilidad en la prueba de nado forzado, se aumentan los picos de la hormona adrenocorticotropa y corticosterona como síntoma de estrés crónico, y ocurre un incremento del peso corporal relacionado a una disminución de la actividad general.

Una razón para sugerir que el aislamiento de los sujetos de los grupos SOC y EA fue suficiente para ensombrecer los posibles efectos del EA en la tarea de CNS, está íntimamente relacionado con los efectos de contraste previamente descritos. Tal como se mencionó, el retiro súbito de las condiciones físicas y sociales pudo propiciar una disminución general de la actividad de los sujetos provocando una situación de estrés lo que pudo provocar la alteración de las ejecuciones de los sujetos.

Otras consideraciones metodológicas relacionadas con la falta de estandarización de los protocolos de EA que pudieron afectar los resultados en el presente estudio están relacionadas con los tiempos de exposición de los sujetos a las condiciones de EA y la interacción con el experimentador.

La decisión de adaptar un protocolo de EA intermitente en lugar de un protocolo continuo se tomó de las experiencias previas en el laboratorio. En un trabajo realizado por Rodrigo, Fernández, y Torres (Septiembre de 2015), las ratas de la condición EA mostraban conductas de agresión y escape al tratar de ser sujetadas por el experimentador para ser colocadas en múltiples tareas conductuales. Un análisis de los patrones de locomoción en la tarea de CA en los primeros minutos de las sesiones mostró que los sujetos permanecían quietos en las esquinas al inicio de los ensayos. Al cabo de algún tiempo los sujetos comenzaban a explorar de manera regular. Estos resultados no eran consistentes con lo reportado en la literatura (Brenes et al., 2008; Mora-Gallegos et al., 2015). Esto parecía sugerir que los animales eran afectados por la manipulación del experimentador antes de las pruebas experimentales. Con el objetivo de minimizar los efectos de estrés causados por la

falta de habituación al experimentador, se pensó adoptar un protocolo intermitente pues de esta manera se incrementaban las ocasiones en que los sujetos interactuaran con el experimentador lo que permitiría que se redujeran los problemas de estrés. Desafortunadamente parece ser que la exposición intermitente a EA minimizó los efectos benéficos de éste lo que impidió observar diferencias entre los grupos EA, SOC y AIS (Bennett, McRae, Levy, & Frick, 2006; Widman, Abrahamsen, & Rosellini, 1992; Widman & Rosellini, 1990). En correspondencia con lo anterior, algunos autores (Lapiz et al., 2003) han descrito que la constante manipulación de los sujetos por parte del experimentador durante el transcurso del experimento puede aminorar los efectos de estrés causados por el alojamiento AIS. Aunque no se puede afirmar, la posibilidad de que esta sea una variable que afecte de manera sustancial los resultados, es relativamente baja pues todos los sujetos de todas las condiciones recibieron el mismo manejo.

La ausencia de estandarización en los protocolos de EA genera una insuficiente confiabilidad de los resultados, lo que obstaculiza su réplica entre laboratorios (Simpson & Kelly, 2011). Aún cuando algunos autores han propuesto soluciones al problema de estandarización en el área (Fares, Kouchi, & Bezin, 2012) a través del diseño y construcción de una caja de EA, es poco probable que desaparezca. Desafortunadamente parece ser que los problemas de replicabilidad no se restringen únicamente al área de EA. De hecho, se ha reportado una mayor incidencia de casos en las áreas relacionadas al estudio del comportamiento animal (Spruijt, Peters, de Heer, Pothuizen, & van der Harst, 2014). Esto puede estar relacionado al tipo de muestras utilizadas para evaluar los fenómenos conductuales, las cuales no sean suficientes para mostrar un efecto sólido (Eskola, Lauhikari, Voipio, Laitinen, & Nevalainen, 1999).

Por último, cabe la posibilidad de que los efectos del EA no sean capaces de generar diferencias en una tarea operante. Los escasos experimentos en tareas operantes (Hoffmann et al., 2009; Ough et al., 1972) parecen indicar que no existe un efecto claro del EA en tareas operantes. Resultados similares fueron obtenidos por Rodrigo, Rico, Moreno, y Zea (Septiembre de 2015). Los autores expusieron a 48 ratas de la cepa Wistar a diferentes duraciones de EA (DPN23, 30,40 y 50 respectivamente). El objetivo del estudio era conocer si exposiciones de mayor duración a condiciones de EA generaban un cambio en la ejecución de un programa de reforzamiento IF60. Los resultados no indicaron diferencias entre ninguno de los sujetos. Estos resultados concuerdan a lo descrito previamente. Esta serie de resultados pone en duda si los efectos del EA pueden ser identificados en tareas operantes.

Una alternativa para explicar esto es que las medidas utilizadas para evaluar los efectos del tipo de alojamiento no son suficientemente sensibles para captar el efecto o incluso puede ser que los efectos del EA sean identificables sólo durante las etapas de adquisición.

En relación con lo anterior, se podría sugerir que la nula evidencia del efecto del alojamiento diferencial en los niveles de ansiedad y frustración en un procedimiento de CNSo evaluados en el presente experimento puede ser resultado del número de sesiones que debieron cumplirse como efecto indirecto de los criterios de estabilidad implementados. Si esto fuera cierto, se sustentaría la hipótesis que los efectos del EA son dependientes del número de sesiones, y que por lo tanto sólo pueden ser observados en las etapas de adquisición.

Un estudio que soporta dicha hipótesis es el realizado por Barrón, Ávila-Chauvet, Rodrigo, y García-Leal (Abril de 2016). En este estudio los autores fueron capaces de mostrar los efectos del EA en las etapas de adquisición. Se expusieron a 18 ratas de la cepa

Wistar a una tarea de elección sub óptima. Los resultados en las fases de prueba no muestran diferencias significativas entre los grupos AIS, SOC y EA. Sin embargo un análisis de la fase de adquisición (RF1/TF60) permitió observar diferencias significativas entre los grupos. Este resultado permite evidenciar que los efectos del EA pueden ser observados en tareas operantes.

Estos resultados crean una clara necesidad por ampliar la gama de estudios en el área de EA los cuales permitan conocer los efectos del alojamiento diferencial en tareas operantes, específicamente en tareas de adquisición de respuesta las cuales brindan indicios sobre procesos básicos psicológicos como el aprendizaje.

## Referencias

- Balcombe, J. P. (2006). Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review. *Laboratory Animals*, 40(3), 217–235. https://doi.org/10.1258/002367706777611488
- Baumans, V., van Loo, P. L. P., & Pham, T. M. (2010). Standardisation of environmental enrichment for laboratory mice and rats: Utilisation, practicality and variation in experimental results. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*, *37*(2), 101–114. https://doi.org/10.1093/ilar.46.2.162
- Barrón, E., Ávila-Chauvet, L., Rodrigo, A., & García-Leal, O. (Abril de 2016) Elección subóptima en ratas y la influencia del enriquecimiento ambiental en tareas de elección. Sexta Reunión Nacional de Investigación en Psicología. Congreso llevado a cabo en Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México.
- Beery, A. K., & Kaufer, D. (2015). Stress, social behavior, and resilience: Insights from rodents. *Neurobiology of Stress*, *I*(1), 116–127. https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2014.10.004
- Bennett, J. C., McRae, P. A., Levy, L. J., & Frick, K. M. (2006). Long-term continuous, but not daily, environmental enrichment reduces spatial memory decline in aged male mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, 85(2), 139–152. https://doi.org/10.1016/j.nlm.2005.09.003
- Brenes, J. C., Rodríguez, O., & Fornaguera, J. (2008). Differential effect of environment enrichment and social isolation on depressive-like behavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in prefrontal cortex and ventral striatum. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 89(1), 85–93. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.11.004
- Cossio-Bolaños, M., Gómez Campos, R., Vargas Vitoria, R., Hochmuller Fogaça, R. T., & de Arruda, M. (2013). Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar. *Nutrición Hospitalaria*, 28(6), 2151–2156. https://doi.org/10.3305/nutr hosp.v28in06.6659
- Costa, C. E., & Cançado, C. R. X. (2012). Stability Check: A program for calculating the stability of behavior. *Mexican Journal of Behavior Analysis*, 38(1), 61–71. Retrieved from http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4139130
- Cuenya, L., Fosacheca, S., Mustaca, A., & Kamenetzky, G. (2011). Efectos del aislamiento en la adultez sobre el dolor y la frustración. *Psicológica*, 32(1), 49–63.
- Cuenya, L., Fosacheca, S., Mustaca, A., & Kamenetzky, G. (2012). Effects of isolation in adulthood on frustration and anxiety. *Behavioural Processes*, 90(2), 155–160. https://doi.org/10.1016/j.beproc.2012.01.003
- de Azevedo, C. S., Cipreste, C. F., & Young, R. J. (2007). Environmental enrichment: A GAP analysis. *Applied Animal Behaviour Science*, 102(3), 329–343. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.05.034
- Delamater, A. R., & Westbrook, R. F. (2014). Psychological and neural mechanisms of experimental extinction: A selective review. *Neurobiology of Learning and Memory*, 108, 38–51. https://doi.org/10.1016/j.nlm.2013.09.016
- Eiland, L., & Romeo, R. D. (2013). Stress and the developing adolescent brain. *Neuroscience*, 249, 162–171. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.10.048
- Eskola, S., Lauhikari, M., Voipio, H. M., Laitinen, M., & Nevalainen, T. (1999). Environmental enrichment may alter the number of rats needed to achieve statistical significance. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science.*, 26(3), 134–144.

- Fares, R. P., Kouchi, H., & Bezin, L. (2012). Standardized environmental enrichment for rodents in Marlau cage. *Nature Protocol Exchange*, 1–11. Retrieved from https://www.nature.com/protocolexchange/protocols/2436
- Fester, C. B., & Skinner, B. F. (1957). *Schedules of reinforcement*. Connecticut: Appleton-Century-Crofts.
- Fischer, A. (2016). Environmental enrichment as a method to improve cognitive function. What can we learn from animal models?. *NeuroImage*, *131*, 42–47. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.11.039
- Flaherty, C. F., Greenwood, A., Martin, J., & Leszczuk, M. (1998). Relationship of negative contrast to animal models of fear and anxiety. *Animal Learning & Behavior*, 26(4), 397–407. https://doi.org/10.3758/BF03199232
- Flaherty, C. F., & Rowan, G. A. (1986). Successive, simultaneous, and anticipatory contrast in the consumption of saccharin solutions. *Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes*, 12(4), 381–93.
- Frick, K. M., & Fernandez, S. M. (2003). Enrichment enhances spatial memory and increases synaptophysin levels in aged female mice. *Neurobiology of Aging*, 24(4), 615–626. https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00138-0
- Fuchs, F., Cosquer, B., Penazzi, L., Mathis, C., Kelche, C., Majchrzak, M., & Barbelivien, A. (2016). Exposure to an enriched environment up to middle age allows preservation of spatial memory capabilities in old age. *Behavioural Brain Research*, 299, 1–5. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.11.019
- Goes, T. C., Antunes, F. D., & Teixeira-Silva, F. (2015). Environmental enrichment for adult rats: Effects on trait and state anxiety. *Neuroscience Letters*, *584*, 93–96. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.10.004
- Gould, T. D., Dao, D. T., & Kovacsics, C. E. (2009). The open field test. In T. D. Gould (Ed.), *Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice* (Vol. 42, pp. 1–20). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-303-9
- Haller, J., Harold, G., Sandi, C., & Neumann, I. D. (2014). Effects of adverse early-life events on aggression and anti-social behaviours in animals and humans. *Journal of Neuroendocrinology*, 26(10), 724–738. https://doi.org/10.1111/jne.12182
- Hatch, A., Wilberg, G. S., Balazs, T., & Grice, H. C. (1963). Long-term isolation stress in rats. *Science*, 142(3591), 507.
- Hebb, D. O. (1949). *The Organization of Behavior: A Neuropsychological Theory*. New York: John Wiley & Sons.
- Hoffmann, L. C., Schütte, S. R. M., Koch, M., & Schwabe, K. (2009). Effect of "enriched environment" during development on adult rat behavior and response to the dopamine receptor agonist apomorphine. *Neuroscience*, *158*(4), 1589–1598. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.11.035
- Kobayashi, S., Ohashi, Y., & Ando, S. (2002). Effects of enriched environments with different durations and starting times on learning capacity during aging in rats assessed by a refined procedure of the Hebb-Williams maze task. *Journal of Neuroscience Research*, 70(3), 340–346. https://doi.org/10.1002/jnr.10442
- Kumar, V., Bhat, Z. A., & Kumar, D. (2013). Animal models of anxiety: A comprehensive review. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 68(2), 175–183. https://doi.org/10.1016/j.vascn.2013.05.003
- Lapiz, M. D., Fulford, A., Muchimapura, S., Mason, R., Parker, T., & Marsden, C. A. (2003). Influence of postweaning social isolation in the rat on brain development,

- conditioned behavior, and neurotransmission. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, *33*(1), 13–29. https://doi.org/10.1023/A:1021171129766
- Magalhães, A., Summavielle, T., Tavares, M. A., & De Sousa, L. (2007). Postnatal exposure to cocaine in rats housed in an enriched environment: Effects on social interactions. *Human & Experimental Toxicology*, 26(4), 303–309. https://doi.org/10.1177/0960327106070458
- Mora-Gallegos, A., Rojas-Carvajal, M., Salas, S., Saborío-Arce, A., Fornaguera-Trías, J., & Brenes, J. C. (2015). Age-dependent effects of environmental enrichment on spatial memory and neurochemistry. *Neurobiology of Learning and Memory*, *118*, 96–104. https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.11.012
- Mosaferi, B., Babri, S., Ebrahimi, H., & Mohaddes, G. (2015). Enduring effects of post-weaning rearing condition on depressive- and anxiety-like behaviors and motor activity in male rats. *Physiology and Behavior*, *142*, 131–136. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.02.015
- Mulder, G. B., & Pritchett, K. (2004). The elevated plus-maze. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 43(2), 39–40.
- Mustaca, A. E., Bentosela, M., & Papini, M. R. (2000). Consummatory Successive Negative Contrast in Mice. *Learning and Motivation*, *31*(3), 272–282. https://doi.org/10.1006/lmot.2000.1055
- Nithianantharajah, J., & Hannan, A. (2006). Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(9), 697–709. https://doi.org/10.1038/nrn1970
- Ough, B. R., Beatty, W. W., & Khalili, J. (1972). Effects of isolated and enriched rearing on response inhibition. *Psychonomic Science*, 27(5), 293–294. https://doi.org/10.3758/BF03328968
- Papini, M. R. (2002). Pattern and process in the evolution of learning. *Psychological Review*, 109(1), 186–201. https://doi.org/10.1037/0033-295X.109.1.186
- Papini, M. R. (2003). Comparative psychology of surprising nonreward. *Brain, Behavior and Evolution*, 62(2), 83–95. https://doi.org/10.1159/000072439
- Papini, M. R. (2006). Role of Surprising Nonreward in Associative Learning. *Japanese Journal of Animal Psychology*, *56*(1), 35–54. https://doi.org/10.2502/janip.56.35
- Papini, M. R. (2014). Diversity of Adjustments to Reward Downshifts in Vertebrates. *International Journal of Comparative Psychology*, 27(3), 420–445. Retrieved from http://escholarship.org/uc/item/4db381nz
- Papini, M. R., Fuchs, P. N., & Torres, C. (2015). Behavioral neuroscience of psychological pain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 48, 53–69. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.11.012
- Papini, S., Galatzer-Levy, I. R., & Papini, M. R. (2014). Identifying profiles of recovery from reward devaluation in rats. *Behavioural Brain Research*, 275, 212–218. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.09.006
- Pascual, R., Catalan, M., & Fuentealba, M. (2003). Anxiety traits and neuronal alterations in the medial prefrontal cortex induced by early adverse experiences. *Revista Chilena de Neuro-Psiquiatria*, 41(3), 201–211. Retrieved from http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0717-9227200300030005&lng=en&nrm=iso&tlng=es%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed6&NEWS=N&AN=2006056280
- Pellegrini, S., López Seal, M. F., & Papini, M. R. (2008). Scaling relative incentive value:

- Different adjustments to incentive downshift in pigeons and rats. *Behavioural Processes*, 79(3), 182–188. https://doi.org/10.1016/j.beproc.2008.07.008
- Pellegrini, S., & Papini, M. R. (2007). Scaling relative incentive value in anticipatory behavior. *Learning and Motivation*, *38*(2), 128–154. https://doi.org/10.1016/j.lmot.2006.08.002
- Petit-Demouliere, B., Chenu, F., & Bourin, M. (2005). Forced swimming test in mice: A review of antidepressant activity. *Psychopharmacology*, *177*(3), 245–255. https://doi.org/10.1007/s00213-004-2048-7
- Pritchett, K., & Mulder, G. B. (2004). Hebb-Williams mazes. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 43(5), 44–45.
- Reynolds, G. S. (1968). *A primer of operant conditioning*. Illinois: Scott, Foresman and Company.
- Rodrigo, A., Fernández, G., & Torres, C. (Septiembre de 2015). Efecto del enriquecimiento ambiental en diferentes periodos del desarrollo. XXV Congreso Mexicano de Análisis de la Conducta. Congreso llevado a cabo en Universidad Veracruzana, México.
- Rodrigo, A., Rico, J.L., Moreno, L.M., & Zea, A.C. (Septiembre de 2015). Efecto del enriquecimiento ambiental sobre el desempeño de ratas en un programa de reforzamiento IF60s. XXV Congreso Mexicano de Análisis de la Conducta. Congreso llevado a cabo en Universidad Veracruzana, México.
- Rosenzweig, M. R. (1996). Aspects of the search for neural mechanisms of memory. *Annual Review of Psychology*, 47(1), 1–32. https://doi.org/10.1146/annurev.psych.47.1.1
- Rosenzweig, M. R., & Bennett, E. L. (1996). Psychobiology of plasticity: Effects of training and experience on brain and behavior. *Behavioural Brain Research*, 78(1), 57–65. https://doi.org/10.1016/0166-4328(95)00216-2
- Sandi, C., & Haller, J. (2015). Stress and the social brain: Behavioural effects and neurobiological mechanisms. *Nature Reviews Neuroscience*, *16*(5), 290–304. https://doi.org/10.1038/nrn3918
- Sastre, A., Lin, J.-Y., & Reilly, S. (2005). Failure to obtain instrumental successive negative contrast in tasks that support consummatory successive negative contrast. *International Journal of Comparative Psychology*, 18(4), 307–319.
- Seal, F. L., Pelegrini, S., & Mustaca, A. E. (2010). Respuestas de elección durante el contraste negativo sucesivo consumatorio en ratas. *Avances En Psicologia Latinoamericana*, 28(2), 219–225.
- Semple, B. D., Blomgren, K., Gimlin, K., Ferriero, D. M., & Noble-Haeusslein, L. J. (2013). Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Progress in Neurobiology*, *106–107*, 1–16. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.04.001
- Shao, Y., Yan, G., Xuan, Y., Peng, H., Huang, Q. J., Wu, R., & Xu, H. (2015). Chronic social isolation decreases glutamate and glutamine levels and induces oxidative stress in the rat hippocampus. *Behavioural Brain Research*, 282, 201–208. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.01.005
- Simpson, J., & Kelly, J. P. (2011). The impact of environmental enrichment in laboratory rats-Behavioural and neurochemical aspects. *Behavioural Brain Research*, 222(1), 246–264. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.04.002
- Skinner, B. F. (1953). *Science and Human Behavior*. Pearson Education, Inc. https://doi.org/10.1901/jeab.2003.80-345

- Slattery, D. a, & Cryan, J. F. (2012). Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nature Protocols*, 7(6), 1009–1014. https://doi.org/10.1038/nprot.2012.044
- Smith, B. L., Lyons, C. E., Correa, F. G., Benoit, S. C., Myers, B., Solomon, M. B., & Herman, J. P. (2017). Behavioral and physiological consequences of enrichment loss in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 77, 37–46. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.11.040
- Soares, R. O., Rorato, R. C., Padovan, D., Lachat, J. J., Antunes-Rodrigues, J., Elias, L. L. K., & Almeida, S. S. (2015). Environmental enrichment reverses reduction in glucocorticoid receptor expression in the hippocampus of and improves behavioral responses of anxiety in early malnourished rats. *Brain Research*, *1600*, 32–41. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.12.047
- Spruijt, B. M., Peters, S. M., de Heer, R. C., Pothuizen, H. H. J., & van der Harst, J. E. (2014). Reproducibility and relevance of future behavioral sciences should benefit from a cross fertilization of past recommendations and today's technology: "Back to the future." *Journal of Neuroscience Methods*, 234, 2–12. https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2014.03.001
- Stanford, S. C. (2007). The open field test: Reinventing the wheel. *Journal of Psychopharmacology*, 21(2), 134–135. https://doi.org/10.1177/0269881107073199
- Valzelli, L. (1973). The "isolation syndrome" in mice. *Psychopharmacologia*, *31*(4), 305–320. https://doi.org/10.1007/BF00421275
- Walsh, R. N., & Cummins, R. A. (1976). The open-field test: A critical review. *Psychological Bulletin*, 83(3), 482–504. https://doi.org/10.1037/0033-2909.83.3.482
- Weinstein, L. (1970). Negative incentive contrast with sucrose. *Psychonomic Science*, 19(1), 13–14.
- Weiss, I. C., Pryce, C. R., Jongen-Rêlo, A. L., Nanz-Bahr, N. I., & Feldon, J. (2004). Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural Brain Research*, *152*(2), 279–295. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.10.015
- Wenk, G. L. (2004). Assessment of spatial memory using the radial arm maze and Morris water maze. In *Current Protocols in Neuroscience* (p. 8.5A.1-8.5A.12). John Wiley & Sons, Inc. https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0805as26
- Widman, D. R., Abrahamsen, G. C., & Rosellini, R. A. (1992). Environmental enrichment: The influences of restricted daily exposure and subsequent exposure to uncontrollable stress. *Physiology and Behavior*, *51*(2), 309–318. https://doi.org/10.1016/0031-9384(92)90146-S
- Widman, D. R., & Rosellini, R. A. (1990). Restricted daily exposure to environmental enrichment increases the diversity of exploration. *Physiology and Behavior*, 47(1), 57–62. https://doi.org/10.1016/0031-9384(90)90042-3
- Will, B., Galani, R., Kelche, C., & Rosenzweig, M. R. (2004). Recovery from brain injury in animals: Relative efficacy of environmental enrichment, physical exercise or formal training (1990-2002). *Progress in Neurobiology*, 72(3), 167–182. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2004.03.001
- Workman, A. D., Charvet, C. J., Clancy, B., Darlington, R. B., & Finlay, B. L. (2013). Modeling transformations of neurodevelopmental sequences across mammalian species. *The Journal of Neuroscience*, *33*(17), 7368–83.