

Evitación Activa en Ratones BALB/c Mediante Condicionamiento Pavloviano sin Reforzamiento Negativo^{1, 2}

(Active Avoidance in BALB/c Mice Through Pavlovian Conditioning Without Negative Reinforcement)

David Balseca-Bolaños³, Ana León-Tapia, Marco Gamboa-Proano,
Karla Pérez-Lalama y Xavier Reinoso-Mora
Facultad de Ciencias Psicológicas, Universidad Central del Ecuador
(Ecuador)

Resumen

La conducta de evitación activa se ha definido como un comportamiento mediante el cual los organismos aprenden a evitar estímulos aversivos mediante una respuesta motora inicial. Tradicionalmente, esta conducta se ha estudiado mayoritariamente desde el punto de vista del condicionamiento instrumental como mecanismo central; pero ha recibido poca atención desde el condicionamiento pavloviano. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue determinar si el condicionamiento pavloviano, por sí solo, puede generar respuestas de evitación activa. Para ello, se usó un diseño factorial simple con 21 ratones de la cepa *BALB/c*, divididos en grupo control, grupo instrumental y grupo pavloviano. Los datos fueron analizados mediante pruebas no paramétricas de comparación de grupos (Kruskal-Wallis), post hoc con la prueba de Dunn para diferencias específicas y correlación de Spearman entre frecuencia de evitación y latencia. Los resultados mostraron una diferencia estadísticamente significativa en los tres grupos ($p < .05$). Concretamente, el condicionamiento pavloviano sí desarrolló, aunque en menor grado, conductas de evitación, estas no difirieron estadísticamente del condicionamiento instrumental ($z = -1.37, p = 0.172, r = 0.57$). Además, la frecuencia de evitación estuvo altamente correlacionada con la latencia de la misma $r(19) = -0.91, p < .001$. Estos hallazgos, contribuyen teóricamente a la comprensión de la conducta de evitación pavloviana

1 Este estudio fue financiado como parte de los proyectos ganadores de la convocatoria de Proyectos Senior 2022 de la Universidad Central del Ecuador (código DI-CONV-2022-028). Los autores declaran no tener conflictos de interés.

2 David Balseca-Bolaños  <https://orcid.org/0009-0003-0188-1591>

Ana León-Tapia  <https://orcid.org/0000-0002-9623-8739>

Marco Gamboa-Proano  <https://orcid.org/0000-0002-3971-5156>

Karla Pérez-Lalama  <https://orcid.org/0000-0002-1536-6350>

Xavier Reinoso-Mora  <https://orcid.org/0009-0002-4286-0626>

3 Dirección para correspondencia: David Francisco Balseca Bolaños. Correo electrónico: dfbalseca@uce.edu.ec

y al desarrollo de nuevos procedimientos en el tratamiento de conductas asociadas a la evitación.

Palabras clave: condicionamiento pavloviano, conducta de evitación, condicionamiento instrumental, ratones BALB/c

Abstract

Active avoidance behavior has been defined as a response through which organisms learn to avoid aversive stimuli by performing an initial motor action. Traditionally, this behavior has been studied primarily from the perspective of instrumental conditioning as the central mechanism, receiving little attention from the standpoint of Pavlovian fear conditioning. In this context, this study aimed to determine whether Pavlovian conditioning alone can generate active avoidance responses. A simple factorial design was used with 21 BALB/c mice, divided into a control group, an instrumental group, and a Pavlovian group. Data were analyzed using non-parametric group comparison tests (Kruskal-Wallis), Dunn's post hoc test for specific differences, and Spearman correlations between avoidance frequency and latency. Results showed a statistically significant difference among the three groups ($p < .05$). Specifically, Pavlovian conditioning did elicit avoidance behavior, albeit to a lesser extent, and did not differ statistically from instrumental conditioning ($z \approx 1.37$, $p = .172$, $r = .57$). Moreover, avoidance frequency was highly correlated with latency, $r(19) = -0.91$, $p < .001$. These findings contribute theoretically to the understanding of Pavlovian avoidance behavior and the development of new procedures for treating behaviors associated with avoidance.

Keywords: Pavlovian conditioning, avoidance behavior, instrumental conditioning, BALB/c mice

En psicología y en neurociencia existe un paradigma predominante conocido como evitación activa (LeDoux et al., 2017) que ha servido de base para conceptualizar diversos trastornos desde la ansiedad (Dymond, 2019), el trastorno de estrés postraumático (McLean & Foa, 2024) hasta la depresión (Haskell et al., 2020). La evitación activa se define como un mecanismo conductual mediante el cual el organismo aprende a evitar estímulos aversivos a través de respuestas motoras activas (Cain & LeDoux, 2007). La base conductual de este mecanismo se fundamenta en dos procesos de aprendizaje: el condicionamiento pavloviano de miedo y el condicionamiento instrumental. El primero se define como el emparejamiento de un estímulo neutro con un estímulo aversivo, hasta que el estímulo neutro adquiere la capacidad de desencadenar una respuesta fisiológica de miedo en el organismo (Fullana et al., 2020). Mientras tanto, el condicionamiento instrumental describe cómo el organismo, después de varias repeticiones, aprende a evitar el estímulo aversivo —concretamente el estímulo condicionado— mediante una respuesta de evitación, dirigiéndose activamente a un lugar donde no existe el evento aversivo. En la literatura conductual, dentro del paradigma operante, a este último mecanismo se lo conoce como reforzamiento negativo, que es el aumento

de una determinada conducta con el objetivo de remover un estímulo aversivo (Hofmann et al., 2019).

Los anteriores mecanismos se han explicado desde la teoría bifactorial de Mowrer (1947). El punto principal de la teoría de Mowrer era primordialmente la reducción del “miedo” como factor de mantenimiento de la conducta de evitación. Durante mucho tiempo esta teoría sentó las bases sobre el origen y mantenimiento del miedo, incluso en áreas aplicadas, como en los entornos terapéuticos, logrando grandes avances a nivel de tratamiento de fobias y otros trastornos (Kryptos et al., 2015). El modelo fue tan popular durante mucho tiempo que incluso algunos autores como Solomon et al. (1953) lo validaron empíricamente usando precisamente una caja de doble vía, permitiendo mediciones objetivas y cuantificables de la conducta de evitación activa. Con este procedimiento también se pudo observar que los organismos no cesaban su conducta de evitación, aun cuando el estímulo aversivo ya había terminado, mostrando porque la conducta de evitación era difícil de extinguir. El animal no podía confrontar la fuente inicial de aprendizaje asociativo, la cual, tras algunos ensayos, había perdido sus funciones aversivas y el aprendizaje inicial de evitación de daño terminaba reforzando la respuesta. Aunque el modelo gozó de mucha popularidad por más de diez años, empezó a ser cuestionado teóricamente con base en dos temas recurrentes y específicos (LeDoux et al., 2017). Primero se puso en tela de duda que la reducción del “miedo” sea necesaria para la respuesta de evitación. Por ejemplo, en un estudio se demostraba que las respuestas fisiológicas del miedo no variaban, pero la conducta de evitación se seguía manteniendo (Mineka, 1979). Además, se empezó a criticar el constructo de “miedo” como demasiado subjetivo y permaneció durante mucho tiempo sin poderse someter a validación empírica. Otro factor se centró en cuestionar la naturaleza de la instrumentalidad del proceso. Bolles (1970), como se mencionó anteriormente, creía que la evitación no seguía momentos de aprendizaje previo y contingente sino más bien respuestas específicas de la especie.

Sin embargo, en los últimos años se ha revivido el paradigma de la evitación activa debido a los avances de la neurociencia conductual en los que se han descubierto los mecanismos cerebrales subyacentes a esta conducta (LeDoux et al., 2017). Particularmente, neurocientíficos han descubierto los mecanismos neuronales y moleculares que subyacen a cada uno de estos dos procesos del aprendizaje (condicionamiento pavloviano e instrumental) involucrados en la evitación activa. Por ejemplo, en el condicionamiento de miedo se hallan relacionadas áreas como el sistema límbico, concretamente en el núcleo lateral y central de la amígdala (relacionado con el condicionamiento) (Gründemann & Lüthi, 2015); mientras tanto, la evitación mantenida por reforzamiento se encuentran las áreas cerebrales como el núcleo accumbens (relacionado con la conducta de evitación) y también el núcleo lateral y central de la amígdala (Bravo-Rivera et al., 2015).

Aunque estos dos mecanismos se encuentran ligados como respuesta de evitación, ya sea desde el paradigma clásico de Mowrer (1951), o de los actuales teóricos como LeDoux et al. (2017), actualmente se empieza a cuestionar la presunción de que solamente el reforzamiento es una condición necesaria para la respuesta de evitación (Kryptos et al., 2015). Algunos autores han teorizado

que la evitación activa puede desarrollarse por otro tipo de mecanismos como los evitativos propios de la especie o solamente con el aprendizaje pavloviano (Cain, 2019; Cain & LeDoux, 2007; Kryptos et al., 2015)

De hecho, se sabe desde algún tiempo que las conductas de respuestas defensivas se pueden dar con condicionamiento pavloviano por sí solo. Bolles (1970), por ejemplo, postuló que lo que se desarrollaba en los organismos eran respuestas defensivas propias de las especies ante estímulos aversivos y que no había necesidad de invocar a otro mecanismo de aprendizaje como el reforzamiento negativo para explicar la conducta de escape. En otro caso, Kryptos et al. (2013) realizaron un estudio con seres humanos, en el que se demostró que el condicionamiento pavloviano podía provocar respuestas de evitación sin previo entrenamiento de esa conducta de evitación por reforzamiento negativo. Esto quiere decir que los participantes desarrollaron la conducta de evitación sin que esta fuera contingente a la eliminación de la descarga o el estímulo condicionado, algo que es propio del reforzamiento negativo. Para llegar a esas conclusiones, los autores se basaron en otros paradigmas, como el del condicionamiento de sabor, en el que los animales desarrollaron la respuesta de acercamiento al estímulo condicionado, sin que fuesen reforzados por la comida; es decir, su conducta fue independiente del reforzamiento (Brown & Jenkins, 1968). Asimismo, se basaron en los estudios de Miller (1948) en los que las ratas fueron expuestas a estímulos aversivos en un laberinto, pero su escape no eliminaba la aversión y aun así siguieron escapando de manera evitativa.

Otras teorías y estudios también han apoyado la independencia del condicionamiento clásico respecto del reforzamiento negativo, pero se han amparado en la evitación primaria (anticipación del shock) solo como preludeo del reforzamiento negativo (LeDoux et al., 2017). Por ejemplo, Rescorla & Lolordo (1965) desde una perspectiva “cognitiva”, que lo que el organismo aprende no es la evitación como mecanismo de eliminar el estímulo aversivo, sino cómo el organismo aprende a predecir la llegada de un estímulo aversivo, a través del estímulo condicionado, el cual es previo a todo aprendizaje instrumental de reforzamiento negativo. Aunque esta predicción puede aumentar o disminuir la respuesta de evitación, la investigación de Rescorla & Lolordo (1965) centró primordialmente en entrenamiento en respuesta de evitación, a través de refuerzo negativo, con canes como sujetos de estudio.

Por otro lado, otros estudios se han centrado en conductas propias de la especie para explicar la evitación sin reforzamiento negativo. Sin embargo, en las teorías sobre las conductas propias de la especie, como el trabajo de Bolles (1970), se ha criticado que no podría explicar otras formas de evitación que no son innatas, como las que involucran cierto nivel de aprendizaje asociativo, como cuando los organismos aprenden señales predictivas de amenaza (LeDoux et al., 2017). Un parámetro importante para la diferenciación entre las conductas innatas y de evitación, ha sido la latencia de respuesta, la cual ha sido testeada en estudios importantes como el de Solomon et al. (1953). En esos estudios se ha visto que, dentro del aprendizaje de evitación, mientras más aumenta la frecuencia de evitación, se reduce la latencia de respuesta, como indicativo de aprendizaje de *anticipación*. Aunque los parámetros de latencia de los anteriores estudios, se han

realizado con condicionamiento instrumental, sientan un parámetro válido de uso en el condicionamiento clásico para diferenciar de otro tipo de respuestas innatas como, por ejemplo, la conducta exploratoria.

Como se ha observado, existen teorizaciones previas de cómo solo el condicionamiento pavloviano podría elicitar respuestas de evitación sin intervención de reforzamiento negativo; gran parte de ellas, sin embargo, se han hecho sobre respuestas defensivas o sobre predicción previa a la evitación de reforzamiento negativo. Pero como se ha visto, la teoría de Bolles sobre conductas naturales, no podría explicar otras formas de evitación que no son innatas (LeDoux et al., 2017) y en el caso del estudio de Rescorla & Lolordo (1965), no se podría explicar la conducta sin apelar previamente al entrenamiento en reforzamiento negativo para probar sus hipótesis.

Por ello, Kryptos et al. (2015), basados en esas investigaciones, y en sus resultados sobre evitación en humanos, idearon un experimento teórico hipotético basado en el estudio con perros de Rescorla & Lolordo (1965). Una vez que los animales aprendían la predicción de estímulo aversivo, —en este caso con la presencia del estímulo condicionado (EC)—, podrían generar respuestas defensivas, como una respuesta de evitación, previo a cualquier aprendizaje de refuerzo negativo. Esta respuesta de evitación se manifestaría a través de una conducta manifiesta, que estaría operacionalizada a través del paso de un compartimento a otro, en una caja de evitación activa.

Con base en lo anterior, se ha planteado llevar a cabo de manera experimental la predicción teórica de Kryptos. Para ello, se tomó como referencia el estudio de Rescorla & Lolordo (1965), pero esta vez usando un modelo de evitación de doble vía con ratones BALB/c, en el que se pueda controlar el reforzamiento negativo, tomando solo en cuenta conductas manifiestas de evitación provocadas por el condicionamiento pavloviano.

A pesar de la literatura abundante sobre esos estudios, hasta el momento de la presente revisión, no se ha comprobado directamente la hipótesis experimental de evitación activa, concretamente en ratones, en una caja de doble vía como lo es la caja de lanzadera.

Tomando en cuenta lo anterior, en esta investigación se han planteado algunas hipótesis. Primero, no habrá diferencias significativas entre la conducta manifiesta de evitación entre el grupo de reforzamiento negativo y de condicionamiento de miedo; pero sí habrá en cuanto al grupo control. Asimismo, se plantea que la latencia y la frecuencia de evitación estarán relacionadas, indicando genuina evitación de amenaza y no otro tipo de conducta, como puede ser conducta innata de exploración.

Método

Sujetos

Se utilizaron 21 ratones macho de la cepa *BALB/c* jóvenes (8 a 12 semanas de edad; peso: 25 ± 2 g). Los ratones se encontraban alojados en el laboratorio de Psicología Experimental de la Facultad de Ciencias Psicológicas de la Universidad Central del Ecuador. Se mantuvieron en condiciones estables de temperatura (21 ± 2 °C) y ciclo de luz-oscuridad de 12 horas regulares. Durante todo el estudio, recibieron una dieta estándar ad libitum con alimento balanceado durante todas las fases del estudio. La presente investigación siguió las Normas Nacionales e Internacionales de cuidado y uso de animales no humanos de investigación y fue aprobada por un Comité de Ética Animal de la Universidad Central del Ecuador.

El uso de esta cepa *BALB/c* fue elegido para el presente estudio debido a sus características de hiperreactividad conductual. Si bien la cepa ha sido muy usada en modelos médicos por su alta respuesta de inmunidad, esta característica está relacionada también con una alta respuesta al estrés (Yalcin et al., 2004). Por ejemplo, esta cepa tiene mayores genes asociados a la respuesta del estrés como freezing y evitación pasiva, a través del receptor *Crhrl* de corticotropina en áreas como la amígdala, a diferencia de la cepa *C57BL/6*, que tiene receptores moduladores de la ansiedad y el miedo (Oriel & Kofman, 2015). Esto hace que esta cepa sea un modelo ideal para el estudio de respuestas defensivas ya señaladas por Bolles, pero también en el aprendizaje de anticipación a señales de peligro (Brinks et al., 2009).

Para establecer el tamaño de la muestra en esta investigación, que es de tipo experimental, se consideraron algunos criterios con base en la revisión bibliográfica: en investigación experimental para valores estándar de potencia $(1-\beta) = 0.80$ y nivel de significación $(\alpha) = 0.05$. Sin embargo, para el tamaño del efecto se considera un efecto grande para experimentación animal de 1.5 que es distinto a lo planteado por seres humanos según lo demuestran los análisis de Festing (2011).

Así, mediante el programa *G-power* 3.1 (Faul et al., 2007) se determinó una muestra total de 21 ratones, con una potencia 0.95, con un tamaño de efecto de 1.50* y un intervalo de confianza del 95% ($\alpha = 0.05$).

Una vez establecido el tamaño de la muestra y la división de los grupos, se procedió a realizar la asignación aleatoria a dichos grupos. Para ello, se utilizó una aleatorización completa a través de una hoja de cálculo de Excel que asigna las unidades a los grupos experimentales. Cada uno de ellos fue designado aleatoriamente a 3 grupos de 7 cada uno en grupo reforzamiento, grupo condicionamiento y grupo control.

Diseño

Se realizó un diseño experimental factorial siempre con tres variables categóricas independientes: condicionamiento, reforzamiento negativo y grupo control sobre el comportamiento de evitación como variable dependiente (frecuencia de evitación

y latencia). Para la realización del diseño se utilizó el entorno virtual: Asistente de Diseño Experimental (*The Experimental Design Assistant*) del Centro Nacional para el Reemplazo, Refinamiento y Reducción de Animales de Investigación del Reino Unido (NC3Rs) (<https://eda.nc3rs.org.uk/>).

Materiales

Para el procedimiento se utilizó una caja de lanzadera de 60 cm (largo) × 20 cm (ancho) × 30 cm (alto), marca Lafayette Instruments®. Este es un aparato que cuenta con dos compartimentos separados por una puerta metálica (10 × 10 cm) y con piso de rejillas que permite la administración de descargas controladas. La parte superior consta de luces y parlantes, lo que permite la emisión de estímulos que pueden funcionar como estímulos condicionados tales como luces y sonidos.

Este instrumento se usa para el estudio de la conducta de evitación como el paradigma de la evitación activa o le condicionamiento por evitación (LeDoux et al., 2017). En el primer compartimento se le coloca al roedor y se lleva a cabo los procedimientos de asociación como la presentación de estímulos neutros (luces o sonidos) y los estímulos incondicionados como la descarga plantar. Mientras en el segundo compartimento se suele utilizar para medir las variables dependientes de la conducta de evitación, tanto el tiempo de latencia como la frecuencia en la respuesta. Este instrumento es adecuado debido a que permite el estudio de la adquisición de la evitación y debido a que se pueden obtener conductas de evitación mucho más rápido y fácil que, por ejemplo, una caja operante, como lo demuestra la literatura (Berger & Brush, 1975).

Para el registro comportamental se usó dos cámaras de video, marca *Insta 360 GO2*, con dimensiones de 52.9 × 23.6 × 20.7 mm, con un peso de 26.5 g. Cada una de las cámaras se colocó en la parte superior de los dos techos de la caja de lanzadera y fue adherida con un parche metálico.

Para el análisis de datos se usará el software de registro de comportamiento animal denominado *Etho Vision XT* (Noldus et al., 2001). Este programa permite registrar conductas manifiestas y respuestas fisiológicas, ordenándolas por la categoría designada por el investigador.

Procedimiento

Fase 1: Habitación

Minimización del Estrés. Para minimizar el estrés de los ratones se realizó la técnica denominada *handling*, en la cual cada uno de los ratones es sujetado en manos del investigador (de preferencia la misma o las mismas personas que estarán a cargo del procedimiento) por 30 s a 1 min, todos los días durante dos semanas previo al inicio de la tarea experimental.

Habitación a la Sala de Entrenamiento. 24 horas antes del último día de *handling*, los ratones deben habituarse a la habitación de entrenamiento. Esto

consiste en llevar al ratón a la habitación de entrenamiento y realizar *handling* por 30 s a 1 min antes de regresarlo a su jaula.

Fase 2: Entrenamiento

Grupo Condicionamiento Pavloviano. El grupo condicionamiento pavloviano fue sometido a ensayos de condicionamiento los cuales consistían en la presentación de un tono de 2 kHz (80 dB, 5s) como estímulo condicionado (EC) seguido de una descarga eléctrica plantar, como estímulo incondicionado (EI) (0.2 s, 0.3 mA). Inmediatamente se colocó al animal en la caja, después de 30 segundos como forma de habituación al contexto, se presentó el tono con una duración de cinco segundos y antes de que finalice el sonido, alrededor del tercer segundo (como intervalo fijo de 3 segundos entre el EN y el EI), se presentó la descarga plantar alrededor de 0.2 s, como procedimiento de condicionamiento de demora con solapamiento entre los estímulos.

Se realizaron 10 ensayos de condicionamiento con un intervalo entre ensayos (ITI) fijo de 60 segundos. Este procedimiento se llevó a cabo durante 10 días, lo que da un total de 100 ensayos por cada condición. El tiempo de duración total del procedimiento fue de 15 minutos por sesión diaria por cada animal.

Grupo de Condicionamiento Instrumental. El grupo de condicionamiento instrumental por reforzamiento negativo siguió el mismo procedimiento que el del condicionamiento pavloviano con la única diferencia de que, aparte del estímulo y la descarga, se mantenía abierta la compuerta para que al animal pudiese evitar la descarga como mecanismo de evitación, que actuaba como refuerzo negativo. Del mismo modo, se realizaron los 10 ensayos de condicionamiento durante 10 días con un total de 100 ensayos.

Grupo Control. Para controlar los efectos de la manipulación, se usó un grupo control en el que los animales se colocaron en el primer compartimento de la caja de lanzadera, pero sin la administración de ninguna clase de estímulo aversivo como la descarga, solamente el sonido. En esta fase igualmente permanecía cerrada la compuerta y se dejaba al animal desarrollara su comportamiento natural y habitual. De la misma manera se ejecutaron los mismos ensayos y días establecidos para el grupo condicionamiento pavloviano y el grupo condicionamiento instrumental.

Fase 3: Test

Para todas las condiciones, se presentó el tono sin la respectiva administración de la descarga eléctrica. Para cada uno de los ensayos, se abrió la compuerta, una vez iniciado el tono. Después de unos 10 de segundos se procedió a cerrar la compuerta para evitar otro tipo de comportamientos propios de la especie como la conducta natural de exploración. Se llevaron a cabo alrededor de 5 ensayos de prueba por cada ratón, dando lugar a 35 ensayos por cada condición.

Como proceso principal, se registraron todas aquellas conductas manifiestas de evitación activa, una vez que se mostraba el estímulo condicionado. Se excluyeron otro tipo de comportamientos propios de la especie como las conductas de ataque,

escape y congelamiento. Las manifestaciones de escape, si bien pueden tener topografía similar a la de la evitación, se diferencia en que la primera hay una conducta manifiesta previo a un estímulo natural aversivo, como lo es la descarga eléctrica (EI); y la segunda se da como consecuencia del aprendizaje de un estímulo condicionado, como lo es el tono. Las variables para registrarse fueron la latencia, el tiempo en el que el ratón evitaba desde la presentación del EC en adelante; y frecuencia, número de veces en el que el animal pasaba la compuerta con éxito.

Análisis de datos

Los datos conductuales registrados con cámaras fueron procesados con el software de medición de comportamiento animal *Etho Vision XT* (Noldus et al., 2001). Este software se basa en la detección de movimiento y la cuantificación automática objetiva de la conducta. Además, para garantizar la validez del registro de datos se realizó configuraciones previas para la detección de los sujetos experimentales y de las zonas de interés. Para el registro fiable del animal, se usó un ajuste de detección que permite calibrar los umbrales de brillo y contraste, mediante una máscara de rastreo.

También se usó la configuración *center point*, la cual permite usar una coordenada de seguimiento en el cuerpo del animal para identificar su recorrido por la caja y se definieron zonas de interés a través de demarcación virtual, tanto de la zona de inicio y de la zona de evitación, lo que aseguraba la cuantificación exacta del momento de la evitación. Finalmente, se definieron los parámetros de frecuencia y latencia de evitación a ser registrados por el programa, garantizando la pertinencia de los datos automatizados a ser extraídos y analizados.

Para el procesamiento estadístico de los datos, se usó el software estadístico de licencia libre y código abierto *JASP* (JASP Team, 2024) para ello, se usaron medias y desviaciones estándar para el cálculo descriptivo y distributivo de la latencia y frecuencia de las conductas de evitación. Para la evaluación de la distribución de normalidad de los datos se usó la prueba de Shapiro-Wilk para muestras pequeñas y la prueba de Levene para homogeneidad de la varianza. Dada la falta de homogeneidad y de normalidad en la distribución de los datos, se usó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis de tres grupos para ver las diferencias de latencia y frecuencia de evitación. También se realizó un análisis post hoc con el test de Dunn con corrección de Holm para determinar la diferencia de evitación entre los grupos. Finalmente, se realizó un análisis correlacional de Spearman entre la frecuencia y la latencia de evitación con el objetivo de explorar relaciones no aleatorias entre las medidas de esa variable.

Resultados

Los resultados de la prueba conductual (Fase 3) mostraron diferencias en la conducta de evitación entre los tres grupos. El grupo instrumental ($n = 7$) presentó mayor promedio ($M = 5$, $DE = 0.00$) en conducta de evitación en comparación con

el grupo pavloviano ($n=7$, $M=3,14$, $DE=2,03$) y el grupo control ($n=7$, $M=0,14$, $DE=0,37$).

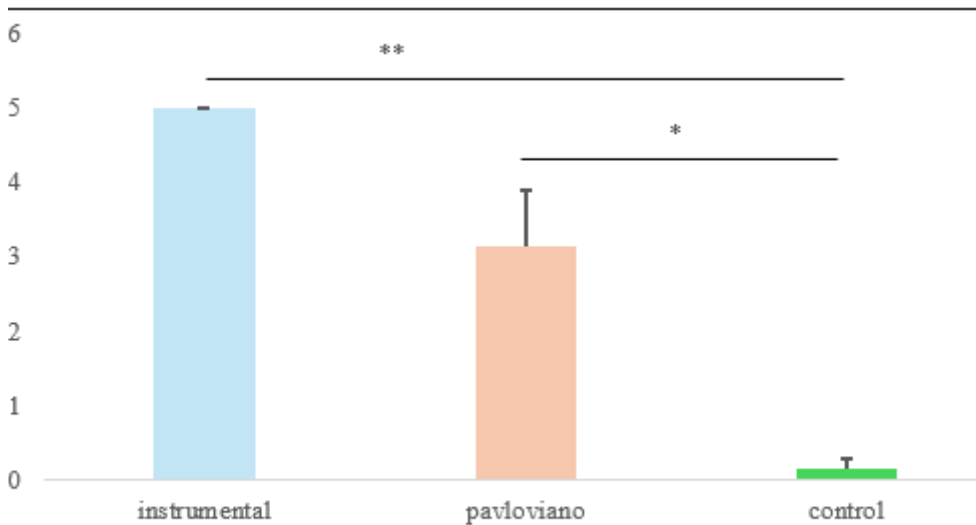
Antes de realizar el análisis inferencial, se verificaron los supuestos paramétricos tanto de normalidad como de homogeneidad. Se comprobó que los datos de la prueba de Shapiro-Wilk no se distribuyeron de manera normal, al menos para uno de los grupos a nivel de frecuencia ($W=0.73$, $p=0.008$); a los otros grupos no se pudo evaluar debido a la falta de varianza. De la misma manera, se procedió a usar la prueba de Levene y se comprobó que no había homogeneidad en las varianzas $F(2, 18)=74.65$, $p<.001$, por lo que se usó una prueba no paramétrica. Al usar la prueba de Kruskal-Wallis, se observó que existió una diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de evitación de los grupos $H(2)=16.41$, $p<.001$, siendo el grupo instrumental el que más evitó. Al realizar un análisis post hoc con el test de Dunn con corrección de Holm, se comprueba que tanto el grupo instrumental como el grupo pavloviano evitó en mayor medida que el grupo control ($z=3.99$, $p<.001$, $r=1.00$; $z=2.62$, $p=0.018$, $r=0.94$). Asimismo, se observó que el grupo pavloviano no difirió significativamente en la conducta de evitación del grupo instrumental ($z\sim 1.37$, $p=0.172$, $r=0.57$, véase Figura 1).

En cuanto al tiempo de latencia, el grupo condicionamiento instrumental presentó un tiempo de latencia promedio de 2,92 segundos ($DE=0,77$; $n=7$), tiempo menor en comparación del condicionamiento clásico con un tiempo de latencia de 5,32 segundos ($DE=3,64$; $n=7$) y del grupo control 7,91 segundos ($DE=3,89$; $n=7$). Previo al análisis inferencial, se realizó un análisis de supuestos paramétricos para el tiempo de latencia. Si bien los grupos experimentales mostraron normalidad, el grupo control no presentó normalidad en la distribución ($W=0.453$, $p<.001$). Asimismo, la prueba de Levene demostró que las varianzas no eran homogéneas, $F(2, 18)=9.25$, $p=0.002$, por lo que se optó igualmente por una prueba no paramétrica como Kruskal-Wallis sobre la latencia de evitación. Al hacer una comparación entre los grupos, se observó también una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos $H(2)=12.38$, $p=0.002$. Para analizar las diferencias específicas, se procedió a realizar un post hoc con el test de Dunn con corrección de Holm. Al igual que los resultados de frecuencia de evitación, se encontró que, en el tiempo de tiempo de latencia, el grupo instrumental y grupo pavloviano tuvieron diferencias significativas en comparación con el grupo control ($z=-3.40$, $p=0.002$, $r=1.00$; $z=-2.48$, $p=0.018$, $r=0.84$). Es decir, el grupo control y el grupo pavloviano tardaron menor tiempo en la conducta de evitación. De manera similar a los análisis de frecuencia, el grupo instrumental no difirió significativamente del grupo pavloviano, al menos en el tiempo que dedicaban a la evitación ($z=0.92$, $p=0.360$, $r=0.35$). Aunque el grupo instrumental tuvo menor tiempo de latencia que el grupo pavloviano, la diferencia estadística no fue significativa.

Finalmente, como se observó, los resultados demostraron diferencias similares entre los tres grupos, por lo que se procedió a realizar un análisis de correlación entre los parámetros conductuales de la conducta de evitación como lo son la frecuencia y el tiempo de latencia para prever si existe algún tipo de relación sistemática entre los mismos. Debido a que los datos no siguieron una distribución normal, se procedió a realizar un análisis correlacional no paramétrico con Rho de

Spearman. Los resultados demostraron que existió una correlación negativa fuerte y significativa entre el número de evitaciones y la latencia de estas $p = -0.91$, $p < .001$. Esto quiere decir que, a mayor frecuencia de conducta de evitación, menor latencia de respuesta.

Figura 1
Frecuencia de Evitación



Nota. Las barras de error representan intervalos de confianza del 95% (IC 95%). Las diferencias significativas se indican con asteriscos: $**p < .05$, $*p < .01$.

Discusión

Uno de los principales objetivos del presente estudio fue comprobar si el condicionamiento pavloviano de miedo, por sí mismo, sin condicionamiento operante puede elicitar la respuesta de evitación. Como primer resultado, se encontró una diferencia significativa entre los tres grupos experimentales. Al realizar un análisis pormenorizado se encontró que tanto el grupo instrumental como el grupo pavloviano desarrollaron respuestas de evitación y los dos lo hicieron en un tiempo mayor en comparación con el grupo control, comprobando nuestra hipótesis. Esto se compagina con otros estudios previos en los que se ha mencionado la posibilidad de que solamente el condicionamiento pavloviano podría desarrollar este tipo de conductas, sin previo aprendizaje instrumental (Krypotos et al., 2015). Esto se explicaría porque, como se vio anteriormente, la predicción de un evento

aversivo daría respuestas de evitación activa o de tendencias de acción, basado en los modelos de las emociones actuales (Kryptos et al., 2013; Kryptos et al., 2015). Desde el punto de vista neuronal también se puede explicar este mecanismo. Ya algunos autores han demostrado como la amígdala tiene vías de conexión con circuitos que son desarrollados para la conducta de congelamiento (LeDoux et al., 2017), existen en esta estructura otro tipo de circuitos en los cuales puede elicitar la respuesta de evitación. Por ejemplo, en un estudio desarrollado por Delgado et al. (2009) se observó, igualmente con participantes humanos, que el condicionamiento pavloviano, desarrolló respuestas de evitación, previo a cualquier otro aprendizaje. Al estudiar las bases neurales de este comportamiento se observó que se activaban algunas áreas relacionadas con la corteza estriada, la cual está involucrada en el procesamiento de las recompensas y la toma de decisiones. Se conceptualizó que existe un circuito en el condicionamiento de miedo entre la amígdala y la corteza estriada ya que esta estructura permite al organismo manejar el miedo y tomar decisiones en cuanto a resultados negativos futuros.

A pesar de que no se mostró diferencias entre los grupos a nivel estadístico, sí se observó que el grupo instrumental tuvo mayor frecuencia de evitaciones y menor tiempo de reacción que el grupo de condicionamiento pavloviano y se hizo mucho más evidente respecto al grupo control, al menos a nivel estadístico. Esto se compagina con el hecho de que la conducta de evitación por reforzamiento negativos ha sido testeada y replicada por décadas en varios estudios (Fanselow & Pennington, 2018; LeDoux, 2014). Desde el paradigma tradicional de Mowrer (1951) se establecía que el reforzamiento negativo permitía al organismo aprender a evitar el resultado negativo asociado al estímulo aversivo, a través de la reducción del miedo. Sin embargo, nuevas conceptualizaciones ponen en tela de duda este hallazgo debido al involucramiento de variables mentalistas (LeDoux, 2014). Al contrario, se plantea que lo que hace el refuerzo negativo es la evitación de señales amenazantes o el acceso a señales de seguridad (LeDoux et al., 2017). Sea cual fuere el mecanismo, el condicionamiento instrumental por refuerzo negativo sigue siendo efectivo al menos en el mantenimiento de la conducta de evitación y esto se ha comprobado en estudios de laboratorio (LeDoux et al., 2017), inclusive en entornos clínicos (Hayes et al., 1996; Hofmann et al., 2019). Y aunque el condicionamiento pavloviano, puede desarrollar respuestas de evitación por sí solas, como se vio en el presente estudio, se considera necesaria la inclusión de la conducta instrumental para fortalecer y mantener esa respuesta (Dymond, 2019; LeDoux et al., 2017). Así como se demostró en los estudios de Rescorla & Lolordo (1965) donde los perros aprendieron la predicción entre un estímulo aversivo como subsecuente de una señal asociada, ésta solo se dio a la par con un entrenamiento de reforzamiento negativo. A nivel neuronal, también se ha comprobado que existen vías de señalización divergentes entre el condicionamiento pavloviano y el instrumental. Al menos, dentro del marco del condicionamiento instrumental, se ha visto que están áreas neuronales implicadas como el núcleo accumbens y también el núcleo lateral y central de la amígdala, dando lugar exclusivamente a respuestas manifiestas de evitación (LeDoux et al., 2017).

En este estudio también se observó que la latencia puede contribuir a ver que los efectos de las variables independientes no fueron aleatorios sobre las dependientes, generando la misma respuesta en las dos dimensiones de la variable, en este caso sobre la variable evitación. Es decir, tanto latencia como frecuencia estuvieron altamente correlacionados, lo que indica que una relación sistemática fuerte al menos a nivel metodológico, explicando que la conducta debió darse por el condicionamiento de amenaza y no por otra variable, como comportamiento espontáneo o de exploración (Kim, 2025). Además, cuando la latencia disminuye con la frecuencia de respuestas, indicaría que se trata de un comportamiento aprendido, cuyo tiempo de reacción se reduce progresivamente a medida que van aumentando los ensayos de evitación (Zielinski et al., 1993). A nivel de constructo teórico, la respuesta rápida de evitación también hace pensar que el organismo ha activado un circuito de defensa, el cual es rápido, desde el punto de vista de la supervivencia, para la evitación de circunstancias amenazantes, como ya bien lo ha establecido LeDoux et al. (2017) en su paradigma del condicionamiento de amenaza. Finalmente, estos hallazgos se compaginan con otros estudios en los que la frecuencia de evitación se asociaba, aunque en menor magnitud, con la latencia de respuesta (Zielinski et al., 1993).

En resumen, este estudio contribuyó a la discusión del paradigma actual de la evitación solo con condicionamiento pavloviano. Se demostró que el condicionamiento pavloviano por sí solo, aunque en menor frecuencia que el condicionamiento instrumental, es necesario para desarrollar la respuesta de evitación. Este tipo de estudios no se habían llevado a cabo antes, más que acercamientos al mismo, como en los estudios vistos en la introducción del presente estudio. Asimismo, se observó que las respuestas de evitación se encontraban altamente correlacionadas con el tiempo de latencia de estas, dando lugar a consistencia en la respuesta estudiada.

Este tipo de estudios, por tanto, promueven el avance del uso de animales en áreas de las ciencias del comportamiento y contribuyen al desarrollo de la investigación experimental básica. Particularmente, en nuestro país, Ecuador, -hasta el momento de la presente revisión-, no se han encontrado estudios de psicología o ciencias del comportamiento, usando animales de investigación. Algo que es llamativo, en comparación con estudios de países vecinos como Perú o Colombia, que lo vienen haciendo desde hace décadas (Ardila, 1985); o en relación con el número de investigaciones que se hacen en seres humanos en la región, que son indudablemente mayoritarias (Rey & Guerrero, 2012). Por ello se espera que esta investigación sienta un precedente al desarrollo de la investigación básica experimental en psicología en el país.

Una de las limitaciones de la presente investigación fue precisamente el tener una muestra pequeña. Sin embargo, esta decisión se basó en las recomendaciones internacionales para el buen uso de animales, las cuales recomiendan la reducción del tamaño muestral y contaba como criterio adecuado para la obtención el aval del Comité de Ética de la Universidad. Otra limitación respecto al criterio muestral fue la dificultad de conseguir los animales de investigación, puesto que acá en el país existen pocos institutos en los cuales se pueda proveer de los especímenes y

los pocos bioterios existentes no contaban con la disponibilidad de ayuda debida. Por esa razón, se recomienda para futuras investigaciones aumentar el tamaño de la muestra dentro de los estándares adecuados éticos y metodológicos establecidos y maximizar el poder estadístico de la investigación.

Finalmente, estos hallazgos tienen implicaciones terapéuticas, a un nivel traslacional, debido a que en la práctica clínica se suele dar más énfasis en los mecanismos del reforzamiento negativo para la reducción de la evitación, que en el mismo condicionamiento pavloviano. Sin embargo, estos nuevos resultados podrían dar nuevas luces para trabajar con los mecanismos de predicción del estímulo, dentro del mismo condicionamiento, como ya se lo viene trabajando en las nuevas conceptualizaciones de la terapia de exposición (Craske et al., 2014).

Referencias

- Ardila, R. (1985). El análisis experimental del comportamiento en Colombia (Parte B). *Revista Latinoamericana de Psicología*, 17(3), 359–369.
- Berger, D., & Brush, R. (1975). Rapid acquisition of discrete-trial lever-press avoidance: Effects of signal-shock interval. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 23(2), 227–239. <https://doi.org/10.1901/jeab.1975.24-227>
- Bolles, R. C. (1970). Species-specific defense reactions and avoidance learning. *Psychological Review*, 77(1), 32–48. <https://doi.org/10.1037/h0028589>
- Bravo-Rivera, C., Roman-Ortiz, C., Montesinos-Cartagena, M., & Quirk, G. J. (2015). Persistent active avoidance correlates with activity in prelimbic cortex and ventral striatum. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 9, 184. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00184>
- Brinks, V., de Kloet, E., & Oitzl, M. (2009). Corticosterone facilitates extinction of fear memory in BALB/c mice but strengthens cue related fear in C57BL/6 mice. *Experimental Neurology*, 216, 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.12.011>
- Brown, P. L., & Jenkins, H. M. (1968). Auto-shaping of the pigeon's key-peck. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.1901/jeab.1968.11-1>
- Cain, C. K. (2019). Avoidance problems reconsidered. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 26, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2018.09.002>
- Cain, C. K., & LeDoux, J. E. (2007). Escape from fear: A detailed behavioral analysis of two atypical responses reinforced by CS termination. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 33(4), 451–463. <https://doi.org/10.1037/0097-7403.33.4.451>
- Craske, M. G., Treanor, M., Conway, C. C., Zbozinek, T., & Vervliet, B. (2014). Maximizing exposure therapy: An inhibitory learning approach. *Behaviour Research and Therapy*, 58, 10–23. <https://doi.org/10.1016/j.brat.2014.04.006>
- Delgado, M. R., Jou, R. L., LeDoux, J. E., & Phelps, E. A. (2009). Avoiding negative outcomes: Tracking the mechanisms of avoidance learning in humans during fear conditioning. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 3, 33. <https://doi.org/10.3389/neuro.08.033.2009>
- Dymond, S. (2019). Overcoming avoidance in anxiety disorders: The contributions of Pavlovian and operant avoidance extinction methods. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 98, 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.01.007>
- Fanselow, M. S., & Pennington, Z. T. (2018). A return to the psychiatric dark ages with a two-system framework for fear. *Behaviour Research and Therapy*, 100, 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.brat.2017.10.012>
- Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A. G., & Buchner, A. (2007). G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods*, 39(2), 175–191. <https://doi.org/10.3758/BF03193146>

- Festing, M. F. W. (2011). How to reduce the number of animals used in research by improving experimental design and statistics. *ANZCCART Humane Science*, 1–11.
- Fullana, M. A., Dunsmoor, J. E., Schruers, K. R. J., Savage, H. S., Bach, D. R., & Harrison, B. J. (2020). Human fear conditioning: From neuroscience to the clinic. *Behaviour Research and Therapy*, 124, 103528. <https://doi.org/10.1016/j.brat.2019.103528>
- Gründemann, J., & Lüthi, A. (2015). Ensemble coding in amygdala circuits for associative learning. *Current Opinion in Neurobiology*, 35, 200–206. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.10.005>
- Haskell, A. M., Britton, P. C., & Servatius, R. J. (2020). Toward an assessment of escape/avoidance coping in depression. *Behavioural Brain Research*, 381, 112363. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112363>
- Hayes, S. C., Wilson, K. G., Gifford, E. V., Follette, V. M., & Strosahl, K. (1996). Experiential avoidance and behavioral disorders: A functional dimensional approach to diagnosis and treatment. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 64(6), 1152–1168. <https://doi.org/10.1037/0022-006X.64.6.1152>
- Hofmann, S. G., & Hay, A. C. (2018). Avoidance as an adaptive coping strategy. *Journal of Anxiety Disorders*, 55, 14–21.
- JASP Team. (2024). *JASP* (Version 0.19.3) [Computer software]. <https://jasp-stats.org/>
- Kim, C. H. (2025). Harmonization of the fastest and densest responses reflects humanlike reaction time in mice. *Frontiers in Neuroscience*, 19, Article 1501374. <https://doi.org/10.3389/fnins.2025.1501374>
- Krypotos, A. M., Effting, M., Arnaudova, I., & Kindt, M. (2013). Avoided by association: Acquisition, extinction, and renewal of avoidance tendencies toward conditioned fear stimuli. *Clinical Psychological Science*, 1(2), 180–192. <https://doi.org/10.1177/2167702613503139>
- Krypotos, A. M., Effting, M., Kindt, M., & Beckers, T. (2015). Avoidance learning: A review of theoretical models and recent developments. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 9, 189. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00189>
- LeDoux, J. E., Moscarello, J., Sears, R., & Campese, V. (2017). The birth, death and resurrection of avoidance: A reconceptualization of a troubled paradigm. *Molecular Psychiatry*, 22(1), 24–36. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.166>
- LeDoux, J. E. (2014). Coming to terms with fear. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(8), 2871–2878. <https://doi.org/10.1073/pnas.1400335111>
- McLean, C. P., & Foa, E. B. (2024). State of the science: Prolonged exposure therapy for the treatment of posttraumatic stress disorder. *Journal of Traumatic Stress*, 37(4), 535–550. <https://doi.org/10.1002/jts.23046>
- Miller, N. E. (1948). Studies of fear as an acquirable drive: I. Fear as motivation and fear-reduction as reinforcement in the learning of new responses. *Journal of Experimental Psychology*, 38(1), 89–101. <https://doi.org/10.1037/h0058455>
- Mineka, S. (1979). The role of fear in theories of avoidance learning, flooding, and extinction. *Psychological Bulletin*, 86(5), 985–1010. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.86.5.985>
- Mowrer, O. H. (1947). On the dual nature of learning: A reinterpretation of “conditioning” and “problem-solving.” *Harvard Educational Review*, 17(2), 102–148.

- Mowrer, O. H. (1951). Two-factor learning theory: Summary and comment. *Psychological Review*, 58(5), 350–354. <https://doi.org/10.1037/h0058956>
- Noldus, L. P. J. J., Spink, A. J., & Tegelenbosch, R. A. J. (2001). EthoVision video tracking system. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, 33(3), 398–414.
- Oriel, S., & Kofman, O. (2015). Strain dependent effects of conditioned fear in adult C57Bl/6 and Balb/C mice following postnatal exposure to chlorpyrifos: Relation to expression of brain acetylcholinesterase mRNA. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 9, 110. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00110>
- Rescorla, R. A., & Lolordo, V. M. (1965). Inhibition of avoidance behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 59(3), 406–412. <https://doi.org/10.1037/h0022060>
- Rey, C. A., & Guerrero, S. I. (2012). Trends of scientific research projects about clinical psychology in Colombia [Tendencias de proyectos de investigación en psicología clínica en Colombia]. *Psicología desde el Caribe*, 29(1), 176–204. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-417X2012000100010
- Solomon, R. L., Kamin, L. J., & Wynne, L. C. (1953). Traumatic avoidance learning: the outcomes of several extinction procedures with dogs. *Journal of Abnormal and Social Psychology*, 48(2), 291–302. <https://doi.org/10.1037/h0058943>
- Yalcin, B., Willis-Owen, S. A. G., Fullerton, J., Meesaq, A., Deacon, R. M., Rawlins, J. N. P., Copley, R. R., Morris, A. P., Flint, J., & Mott, R. (2004). Genetic dissection of a behavioral quantitative trait locus shows that Rgs2 modulates anxiety in mice. *Nature Genetics*, 36(11), 1197–1202. <https://doi.org/10.1038/ng1450>
- Zielinski, K., Werka, T., & Nikolaev, E. (1993). Latency of the two-way avoidance response in rats: Inhibition of delay. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 53(4), 535–545.

(Received: April 01, 2025; Accepted: July 19, 2025)

