



TESIS DOCTORAL

ANÁLISIS DE LOS RECEPTORES D₁ Y D₂ EN LOS PROCESOS DE INHIBICIÓN LATENTE

PRESENTADA POR:

JUANA MEDELLÍN MORENO

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTORA EN PSICOLOGÍA

DIRIGIDA POR:

DRA. ESTRELLA DÍAZ ARGANDOÑA Y

DR. JUAN CARLOS LÓPEZ GARCÍA

DEPARTAMENTO DE PSICOLOGÍA EXPERIMENTAL

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores Dra. Estrella Argandoña Díaz y Dr. Juan Carlos López García que han sabido guiar este trabajo para su culminación a lo largo de este proceso, enriqueciendo y siendo esa luz en la oscuridad para evitar perderse en el camino.

Índice

Introducción	3
Modelos asociativos: fallos en la adquisición y fallos en la recuperación	5
Modelos conductuales	5
Modelos basados en el fallo de adquisición	6
Modelos basados en el fallo de recuperación	9
Modelos que incluyen funciones neurobiológicas	13
Estructuras anatómicas: los sistemas mesolímbico y mesocortical	15
Sistemas de neurotransmisión	23
Sistema mesolímbico y actividad dopaminérgica: Un modelo funcional de la IL	31
El Nac como sistema integrador de funciones	34
Los receptores dopaminérgicos D1 y D2	36
Estudio de la IL y su relación con posibles alteraciones cognitivas	43
El contexto como variable experimental en la IL	53
El paradigma de la aversión condicionada al sabor y su uso en los procesos de inhibición latente	57
Procesamiento neural del sabor	59
Objetivos e hipótesis	63
Experimentos	71
Experimento 1	77
Introducción	77
Métodos	79

Resultados y discusión	82
Experimento 2	89
Introducción	89
Métodos	90
Resultados y discusión	92
Experimento 3	98
Introducción	98
Métodos	99
Resultados y discusión	101
Experimento 4	106
Introducción	106
Métodos	107
Resultados y discusión	109
Discusión general	117
Conclusiones	125
Bibliografía	128

Introducción

Introducción

El fenómeno de inhibición latente (IL) se refiere al enlentecimiento en la adquisición de la asociación entre un estímulo condicionado (EC) y un estímulo incondicionado (EI) tras la exposición en solitario del EC (De la Casa, 2002; Lubow y Moore, 1959). Específicamente, la IL hace referencia a la disminución de la capacidad para adquirir o expresar una nueva asociación a un estímulo que ha sido previamente recibido en forma pasiva. Este fenómeno se observa al comparar la adquisición de la relación EC-EI del grupo en el que se ha pre-expuesto el EC en ausencia de consecuencia con un grupo que no ha recibido dicha pre-exposición al EC (Lubow & Weiner, 2010). La IL ha sido y es de gran interés para la investigación tanto básica como aplicada, dada su influencia en campos de la neurociencia, además de la psicopatología. Su relación con procesos como la esquizofrenia o la hiperactividad han facilitado que el campo de estudio siga en continuo aumento, incrementando nuestro conocimiento acerca de los procesos cognitivos y neurobiológicos que facilitan la aparición del fenómeno.

Por definición una demostración de inhibición latente requiere, como mínimo, dos etapas. En la primera se establece la preexposición del futuro

Introducción

EC sin consecuencias. En la segunda se lleva a cabo el condicionamiento emparejando el EC con un EI. Es en esta segunda etapa donde se miden los efectos de la primera fase o fase de preexposición (Lubow, 1989). En otros procedimientos sin embargo, se suele utilizar una tercera fase o fase de prueba. Procedimientos tales como la supresión condicionada o la aversión condicionada al sabor (Acs), emplean rutinariamente tres fases, es decir, miden la respuesta del animal ante la situación de EC- ausencia de consecuencias inicialmente; en una fase posterior emparejan el EC y el EI y en una tercera fase se mide la respuesta ante la presentación del EC en solitario. Esta última fase permite conocer la efectividad de los emparejamientos previos.

Modelos asociativos: fallos en la adquisición y fallos en la recuperación

Modelos conductuales

La IL es un fenómeno robusto que se demuestra cuando un estímulo familiar es menos eficaz en una nueva situación de aprendizaje. A pesar de la simplicidad del fenómeno, existe un desacuerdo considerable en cuanto a los mecanismos subyacentes. Los modelos tradicionales afirman que el efecto de la preexposición sin consecuencias de un estímulo reduce su capacidad de asociación posterior con una consecuencia. De forma alternativa, otros modelos afirman que la asociación EC-EI no se ve afectada y que la IL es el resultado de los procesos de competencia durante la fase de recuperación. Ambas propuestas se presentan como incompatibles, dado que cada una enfatiza un mecanismo diferente para explicar el fenómeno de la IL. Mientras que para los modelos tradicionales la fase de preexposición provoca una reducción en la capacidad del aprendizaje de condicionamiento (fallo de adquisición), los de recuperación plantean que son los mecanismos

de competición que se establece durante la fase de prueba los que determinan la aparición del fenómeno (fallo de recuperación).

Modelos basados en el fallo de adquisición

El modelo atencional de Mackintosh (1975) asume que el factor determinante del aprendizaje es la atención que el sujeto presta a los estímulos de una situación, la cual es un determinante de la capacidad asociativa o asociabilidad del estímulo. EL modelo plantea dos supuestos con relación a la asociabilidad: 1) que varía con la experiencia, es decir, que la probabilidad de atender a un estímulo incrementa si éste es relevante y disminuye si éste es irrelevante; 2) que los cambios asociativos que acontecen en el curso del condicionamiento son fundamentalmente debidos a variaciones en el procesamiento del EC, lo que implica cambios en su parámetro de asociabilidad.

Asumiendo que los sujetos aprenden a atender e ignorar los estímulos en la medida en que éstos predigan exitosamente el resultado en un ensayo, se plantea que el nivel de asociación dependerá de lo bien que el EC prediga sus consecuencias. El valor de asociabilidad de un EC aumentará si es un mejor predictor de sus consecuencias (aumenta la probabilidad de ser atendido) que otros estímulos presentes en la situación. En el caso de que el EC sea un peor predictor que otros estímulos presentes en la situación, su asociabilidad, disminuirá. Por tanto, durante la fase de condicionamiento se produce una reducción en la atención a los estímulos que no son buenos

Introducción

predictores debido a que dejan de ser relevantes. En este sentido, la atención que recibe un estímulo depende de su capacidad de predicción, siendo los mejores predictores de acontecimientos los que atraerán la atención del animal facilitando el proceso de condicionamiento o la asociación EC-EI.

En relación al fenómeno de la IL, el modelo predice que la exposición del EC previa a la fase de condicionamiento produce una disminución generalizada del nivel de atención prestada a dicho estímulo, lo que hace más difícil el aprendizaje asociativo durante la fase de condicionamiento. El modelo considera que durante la fase de preexposición, el EC formará un compuesto con el contexto en el que se presenta. Debido a que dicho estímulo no predice cambio alguno en la probabilidad de aparición o no del EI, y que además su poder predictivo con relación al del contexto es el mismo, su asociabilidad disminuirá, por lo que su condicionamiento será más lento con relación al del grupo control en el que el EC no ha sido pre-expuesto.

El modelo de Pearce y Hall (1980) también enfatiza el papel de la atención en el condicionamiento. Al igual que Mackintosh (1975), parten del supuesto de que el aprendizaje depende del procesamiento recibido por el EC y que la cantidad de atención que recibe este estímulo depende de su capacidad predictiva. Sin embargo, y en contraste con el modelo de Mackintosh (1975), se considera que los animales atenderán a los estímulos únicamente si sus consecuencias son imprevistas. Por lo tanto, un estímulo

Introducción

será procesado en la medida que no sea un predictor fiable de sus consecuencias. Así, la asociabilidad, está inversamente relacionada con el poder predictivo de los estímulos; perdiendo asociabilidad a medida que incrementa su fuerza asociativa con el EI.

Por lo tanto, se plantea que aquellos estímulos que presenten un carácter novedoso, siendo además malos predictores, serán los que reciban un procesamiento más activo. Además, el modelo explica la pérdida de asociabilidad de un EC a causa de la transferencia de un proceso controlado a uno automático (LaBerge, 1975; Schneider y Shiffrin, 1977; Shiffrin y Schneider, 1977). Estos autores distinguen entre reglas de procesamiento controlado y automático. El procesamiento controlado es necesario mientras los sujetos están aprendiendo sobre las relaciones entre los estímulos y sus consecuencias. Cuando este aprendizaje se ha producido se pondrá en marcha la estrategia de procesamiento automático. Este paso es esencial para entender la IL desde el modelo. La automaticidad a la que se somete el procesamiento del EC, que inicialmente no predice nada o que se convierta en un perfecto predictor de la ausencia de consecuencias, hace que el incremento en la fuerza asociativa al presentar el EC seguido del EI sea mínima en las fases iniciales del condicionamiento, provocando un retraso en la adquisición de la asociación EC-EI.

Otro de los modelos atencionales de interés fue propuesto inicialmente por Lubow, Weiner y Schnur (1981) y posteriormente desarrollado por Lubow (1989). La Teoría de la Atención Condicionada se centra en la atención como

Introducción

un tipo respuesta con características similares a las de las respuestas condicionadas (RCs). La teoría plantea que la primera presentación del EC elicit una respuesta atencional inicial cuyo mantenimiento depende de la presentación del EI, es decir, el emparejamiento entre el EC y el EI previene que la respuesta atencional del EC disminuya. La presentación del estímulo en ausencia de consecuencia produce una disminución en la asociabilidad del estímulo que, según esta teoría, está determinada por un aprendizaje de inatención condicionada. En definitiva el modelo plantea que tanto el mantenimiento como la disminución de la respuesta atencional a los estímulos deben ser consideradas como RCs que dependen de la presentación o ausencia del reforzador respectivamente. Desde esta perspectiva, en el procedimiento de IL la presentación repetida del futuro EC sin consecuencias condicionará una respuesta de inatención al EC disminuyendo su asociabilidad, hecho que dificultaría el aprendizaje de la asociación EC-EI durante la fase de condicionamiento.

Modelos basados en el fallo de recuperación

Los modelos del fallo en la recuperación proponen que la IL se produce porque la preexposición al futuro EC genera un proceso de interferencia proactiva (Bouton, 1993; Miller y Matzel, 1988). Plantean que durante el procedimiento de IL tanto el aprendizaje de preexposición como el de condicionamiento se producen de forma efectiva y que durante la fase de prueba ambos compiten por su expresión. Es decir, durante la recuperación

Introducción

se registra un fallo a la hora de expresar una de las respuestas aprendidas. Principalmente dos han sido los modelos que se enmarcan en estas teorías: los centrados en los mecanismos de ejecución (por ej., Denniston, Savastano y Miller, 2001, Miller y Matzel, 1988; 1989; Miller y Schatchman, 1985) y aquellos orientados hacia los mecanismos de recuperación de la información (por ej., Bouton, 1993; 1994a; 1994b; Bouton y Bolles, 1985).

La hipótesis del comparador: Miller y Matzel (1988) fue planteada por sus autores como una regla de respuestas centrada en la ejecución. El nivel de RC ante un EC vendrá determinado no sólo por la fuerza asociativa adquirida por dicho estímulo durante el entrenamiento; sino también por la fuerza asociativa adquirida por otras claves, incluido el contexto. El modelo plantea un mecanismo de comparación, durante la fase de prueba, entre el valor excitatorio adquirido por el EC y el valor excitatorio adquirido por el resto de las claves presentes durante el condicionamiento. Si en la comparación el valor excitatorio crítico del EC supera el de las claves contextuales, se favorece la ejecución de la RC ante el EC. Si por el contrario, el valor excitatorio de las claves contextuales supera el del estímulo crítico, éste mostrará propiedades de inhibidor condicionado. Así podemos considerar que la ejecución será una función directa de la intensidad de la asociación entre el EC y el EI y una función inversa de la relación entre el resto de las claves contextuales y el EI. La presentación del EC activa una representación del EI (basada en las asociaciones EC-EI propias del entrenamiento) y a su vez activa la representación del conjunto

Introducción

de estímulos presentes durante el entrenamiento. Esta última representación es asimismo capaz de activar una segunda representación del EI. La comparación entre estas dos representaciones determinará el nivel de RC ante el estímulo clave. La importancia de las distintas claves que conforman el estímulo de comparación se determina según la saliencia relativa de las mismas (por ej., Miller y Escobar, 2001; 2002; Miller y Grace, 2003).

Desde el modelo del comparador se predice que cualquier manipulación que disminuya la fuerza de la activación indirecta de la representación del EI (asociaciones contexto-EI o asociaciones EC-contexto) producirá un incremento de la RC ante el estímulo crítico y que las manipulaciones que incrementen la fuerza de dicha activación indirecta, producirán un decremento de la RC al estímulo crítico (por ej., Urushihara, y Miller, 2006).

En este marco, el fenómeno de IL presenta muchas posibilidades de explicación. En la primera fase, o fase de preexposición, la presentación del EC en solitario provocará que se establezcan asociaciones entre el contexto y el futuro EC. Durante el condicionamiento la RC está sujeta a la comparación entre la activación del EI de manera directa por el EC y la representación indirecta del EI (activada por la asociación contexto-EC establecida durante la fase de preexposición) y la asociación contexto-EI. En el caso de la IL se producirá una intensa asociación durante la fase de preexposición entre contexto y EC, debido a su presentación en solitario. Posteriormente la activación indirecta del EI interferirá con la expresión de la

RC producida de manera directa por la asociación EC-EI, con lo que hará que disminuya la RC durante la fase de prueba (Grahame, Barnet, Gunther, y Miller, 1994).

La teoría de la recuperación de la información (Bouton, 1991; 1993; 1994a; 1994b) también considera que la ejecución del sujeto es fruto de la competencia entre distintos aprendizajes y no producto de fallos en la adquisición de los mismos. Desde esta teoría se plantea que las distintas asociaciones entre un EC y un EI, o entre una respuesta y un reforzador son almacenadas en memoria y perfectamente recuperables.

Bouton (1993) además introduce al contexto como factor elemental para reducir la ambigüedad del significado de los estímulos, especialmente durante un proceso de IL. Es decir, que en situaciones donde la asociación entre EC-EI es simple y fácilmente discriminable, el contexto jugaría un papel reducido. Sin embargo, en aquellas situaciones donde se produce ambigüedad a la hora de interpretar el significado del EC, el contexto juega un papel fundamental (Bouton, 1991; 1993; 1994a). Este es el caso de la IL, donde el EC aparece inicialmente sin consecuencias positivas o negativas directas y adquiere un valor informativo de la aparición del EI durante la fase de condicionamiento. Será durante la fase de prueba donde el contexto es especialmente significativo, permitiendo reducir la ambigüedad del EC dada sus dos posibles consecuencias. Este hecho ha sido reproducido experimentalmente por Quintero y otros (2011a). Los cambios en el contexto durante la fase de condicionamiento provocaron una reducción drástica en la

expresión de IL, indicando que los sujetos habían aprendido ambos tipos de respuesta, pero dependiendo del contexto, la expresión de cada una de ellas fue claramente diferente. En esta misma línea, Nelson (2002) plantea que la asociación inicial del EC es dependiente de contexto, mientras que la aprendida posteriormente en el caso de la IL, no lo será. En ambos casos los datos de Quintero y otros (2011a) son congruentes con ambas propuestas, dado que la asociación del EC en un contexto nuevo, diferente al de preexposición, muestra un claro condicionamiento y el proceso de extinción se enlentece.

Modelos que incluyen funciones neurobiológicas

Aunque a simple vista la IL parece un proceso simple, a nivel neurobiológico presenta una complejidad asombrosa. Actualmente este fenómeno parece estar bajo la influencia de varias estructuras del sistema límbico como son la corteza entorrinal, el núcleo accumbens (Nac), y la proyección de dopamina al mesolímbico del área tegmental ventral (Atv). Aunque son numerosas las propuestas, destacaremos aquí dos por su relevancia actual.

Un claro ejemplo de estos modelos es el descrito por Weiner (1990). El modelo del cambio conjuga estas estructuras señalando al Nac como estructura central en la expresión de la IL. Concretamente Weiner se centra en los mecanismos de interrupción de la IL mediados por el Nac. Es decir, se centra los procesos de reducida atención a los estímulos irrelevantes durante

Introducción

la fase de condicionamiento, acentuando el déficit de respuesta en la incapacidad de seguir ignorando las consecuencias del EC. De este modo, una ausencia de IL muestra que el mecanismo de cambio no es efectivo, dada su fragilidad a la hora de responder (Weiner, 2010). Este proceso lo centra en la actividad de las áreas del Nac *core* y *shell*. Ambas estructuras actúan de forma inhibitoria, siendo la IL resultado de esta actividad conjunta. Volveremos sobre este tema más adelante.

La teoría de redes neuronales de aprendizaje de Schmajuk, Lam y Gray (1996) es un modelo matemático de red neural que asume que EC y EI varían su efectividad durante el condicionamiento. El complejo modelo propone que la IL se manifiesta porque se reduce la novedad del EC durante la primera fase o fase de preexposición y, por tanto, la magnitud de la representación de éste. Esto implica una tasa más lenta de adquisición de la asociación EC-EI durante el condicionamiento y un valor más pequeño en la predicción del EI. El cambio provocado durante la fase de condicionamiento provoca un proceso novedoso, provocando un incremento en la magnitud de la representación del EC. Este modelo incluye de nuevo a diferentes áreas del sistema límbico, y especialmente al Nac y su actividad dopaminérgica como estructura eje del proceso.

Estructuras anatómicas: los sistemas mesolímbico y mesocortical

La IL es uno de los fenómenos más interesantes no solo a nivel conductual. A nivel neuroanatómico es igualmente interesante, tal y como han mostrado los múltiples estudios que intentan desentrañar la implicación de las diferentes estructuras que forman el sistema mesolímbico y mesocortical. Analizaremos sucintamente aquí los estudios más relevantes acerca de la relación funcional entre estructuras, iniciando por la que ha acaparado un mayor interés, el Nac.

Esta compleja estructura es fundamental en el sistema mesolímbico y mesocortical, y aún más cuando estudiamos los procesos de IL y su relación con la dopamina. Los estudios que estimulan la liberación de dopamina, o el bloqueo de recaptación de esta en este núcleo, han mostrado que la IL se interrumpe. Además, este proceso se observa incluso cuando la administración de agentes como la amfetamina es sistémica (Weiner y otros, 1987c). El mecanismo que parece activar la administración de fármacos agonistas de dopamina es el denominado mecanismo de cambio (Weiner,

Introducción

1990), proceso que bloquean los antagonistas y agonistas inversos. Fármacos como el haloperidol provoca una clara perseveración de la IL, reduciendo la capacidad de un nuevo aprendizaje asociativo (Robbins y Everitt, 1982, 1992; Taghzouti y otros, 1985 a, 1985b; Swerdlow y Koob, 1987; Stahl, 1988; Le Moal y Simon, 1991; Pennartz y otros, 1994).

Uno de los modelos que con mayor intensidad ha analizado la relación del Nac con la IL ha sido el modelo de cambio de Weiner (1990). Aunque dedicaremos más adelante un apartado a este modelo, introduciremos algunos conceptos que nos ayudarán a entender la implicación del Nac en la IL. El modelo predice que el Nac no está implicado en los procesos que ocurren durante la fase de preexposición. Su actividad está orientada a la asiguiente fase, la de condicionamiento. Aquí, el mecanismo de cambio facilita una reorganización en la capacidad de responder del sujeto acorde con la situación experimental actual (Weiner 2000). El incremento de dopamina sistémica, o especialmente en el Nac, genera un proceso de cambio. Es decir, que tras el condicionamiento la actividad de los sujetos sigue controlada por los efectos de la preexposición al EC. Esto es evidente dado que estudios que lesionan completamente el Nac no eliminan la IL. Sin embargo, el aumento en la liberación de dopamina provoca el efecto de cambio, es decir, desinhibiendo el Nac y provocando una respuesta acorde a la nueva situación asociativa EC-EI (Weiner, 1990; 2003).

Los procesos inhibitorios que suceden en el Nac se realizan a través de estructuras internas. Estas estructuras dividen anatómicamente al Nac en

dos áreas bien diferenciadas a nivel citoarquitectónico y fisiológico, la más caudal el *shell* y la más rostral el *core* (Groenewegen y otros, 1987, 1991, 1996, 1999; Deutch y Cameron, 1992; Heimer y otros, 1997; Maldonado-Irizarry y Kelley, 1994, 1995; Pennartz y otros, 1994; Zahm, 1999, 2000). Según el modelo de cambio, la aportación de cada estructura a la expresión de la IL es diferente, o más concretamente, contraria (Weiner y otros, 1996 a, 1999; Gal 2000). Tanto es así, que las lesiones que alcanzan al *shell* interrumpen la IL (Weiner y otros, 1996a). Por el contrario, la lesión del *core* la mantendría intacta. En su modelo de cambio, Weiner (1990; 2003) propuso que la interrupción de la IL podría deberse a un efecto modulador del *shell* sobre el *core*. El hecho de lesionar el *shell* provocaría la expresión de la asociación EC-EI por la ausencia de efectos inhibitorios sobre el *core*. Es decir, facilitando el proceso de cambio. Por el contrario, el bloqueo de la actividad temporal del *core* o su lesión generaría una incapacidad para la expresión de la asociación EC-EI, presentando los sujetos una ausencia de cambio o una persistente IL.

El papel de la neurotransmisión dopaminérgica es relativamente bien conocido. Dada la irrelevancia del futuro EC durante el efecto de preexposición, se reduciría la actividad dopaminérgica en el *shell*. Esta falta de activación del *shell* sería la responsable de no desinhibir al *core*, y por tanto generar el cambio necesario para expresar la asociación EC-EI (Murphy y otros, 2000; Jeanblanc y otros, 2002a). En este sentido, el *shell* estaría bajo los mecanismos inhibitorios del cambio, provocando el efecto de

Introducción

IL. El *core* sería el responsable del cambio, es decir, de la expresión de condicionamiento o reducción del efecto de IL. Trabajando en conjunto, la expresión de IL podría ser el reflejo de la actividad dopaminérgica en ambas estructuras. Así, la dopamina en el *shell* podría tener una función inhibitoria sobre la activación dopaminérgica en el *core* (Cadoni y otros, 2000). Específicamente, el circuito podría funcionar de la siguiente manera. La caída en los niveles de dopamina en el *shell* facilitaría los efectos inhibitorios sobre el *core*, mientras que un incremento de la actividad dopaminérgica en este último facilitaría los mecanismos de cambio, es decir la expresión de condicionamiento o reducción del efecto de IL.

Otra de las estructuras que se ha relacionado directamente con este proceso ha sido la formación hipocampal. La implicación del hipocampo y de sus áreas adjuntas ha sido contradictoria. Existen datos que apoyan tanto la facilitación de la IL tras su lesión, como la interrupción de la misma (Ackil y otros, 1969; Buhusi y otros, 1998; Clark y otros, 1992; Kaye y Pearce 1987a, b; Purves y otros, 1995; Schmajuk y otros, 1994; Solomon y Moore 1975). Actualmente sabemos que la función del hipocampo es esencial para la actividad del Nac y por tanto para la expresión de una IL normal. Estos cambios parecen estar más asociados a procesos contextuales que a la relación EC-EI. Las lesiones excitotóxicas o la inactivación mediante agonistas gabaérgicos del hipocampo o la fimbria-fornix no aparecen afectar a la expresión de IL (Cassaday y otros, 1993b; Coutureau y otros, 1999; Holt y Maren 1999; Honey y Good 1993; Pouzet y otros, 1999; Quintero y otros,

2011b; Reilly y otros, 1993; Shohamy y otros, 2000; Weiner y otros, 1998). Sin embargo, las lesiones de la corteza entorrinal y del subíulum ventral si afectan claramente a la expresión o interrupción de la IL (Quintero y otros, 2011b; Yee y otros, 1995). Estos estudios nos podrían estar indicando que la vía hasta alcanzar el Nac podría ser diferente tanto a nivel funcional como estructural (Pouzet y otros, 1999; Totterdell y Meredith, 1997; Weiner y otros, 1998). De hecho, las lesiones que afectan claramente a la expresión de la IL, interrumpiéndola, son las lesiones que afectan al córtex entorrinal (Coutureau y otros, 1999, 2000, 2002; Shohamy y otros, 2000; Yee y otros, 1997). Efecto que es invertido tras la administración de haloperidol (Schmajuk y otros, 1994; Yee y otros, 1995).

El efecto inverso fue descrito por Quintero y otros (2011b) tras la lesión del subíulum. Esta estructura forma parte de un complejo sistema que modula la actividad dopaminérgica y glutamatérgica en el Nac. Las lesiones de esta área eliminaron el efecto de especificidad contextual, liberando la IL tras un cambio de contexto. Estos datos suponen un apoyo a los procesos moduladores de las diferentes estructuras que forman el sistema mesolímbico sobre la liberación tónica y fásica de dopamina que proyectan desde el Atv (Floresco y otros, 2001). Esta liberación fásica y tónica puede ser dependiente del contexto; y de ahí que los estudios que incluyen el registro, inactivación o lesión de la formación hipocámpica y las estructuras asociadas puedan arrojar datos contradictorios (Bouton 1993; Gallo y otros, 2005; Hall y Channel 1985; Holt y Maren, 1999; Maren y Holt, 2000; Lubow y

Gewitz 1995; Holt y Maren 1999).

Otra de las estructuras del sistema límbico también implicada directamente en los procesos de aprendizaje es el complejo amigdalino. Al igual que ocurre con el hipocampo, existen datos contradictorios en relación a la función de la amígdala en la IL (Weiner y otros, 1996c). Las lesiones de la amígdala basolateral parecen afectar a la expresión de la IL (interrumpiéndola), basando su argumento en la posible alteración de la asociación EC-EI (Cador y otros, 1991; Coutureau y otros, 2001; Fendt y Fanselow, 1999; Gallagher y Chiba, 1996; LeDoux, 1992). Traverso y otros (2010) hallaron una clara relación de esta estructura con el efecto de preexposición al futuro EC. El bloqueo mediante APV durante la fase de preexposición eliminó la IL. Es decir, que alterando los procesos de plasticidad sináptica en la amígdala basolateral durante la fase de asociación EC ausencia de consecuencias, se obtuvo una clara relación de esta estructura con la IL. Sin embargo, estos datos apoyan más a un problema de procesamiento del EC, dado que se realizó con sacarina, que una relación asociativa EC-ausencia de consecuencias (Traverso y otros, 2010). Es decir, que la actividad de la amígdala podría estar asociada con un proceso perceptivo, y no con la posible representación del valor de incentivo del futuro EC.

Sin embargo, si la función de la amígdala estuviera orientada a la asociación EC-EI, lo esperable sería una IL persistente. Esto es lo que propone el *switching model* (Weiner, 1990; 2003). La fase de

condicionamiento no tendría efecto, generando una respuesta que expresara la relación EC-no consecuencias. Experimentalmente Weiner y otros (1996) encontraron apoyo empírico a esta propuesta, matizando que la lesión provocaría una incapacidad para adaptar su respuesta al cambio de contingencia del EC durante el condicionamiento. Dicho de otro modo, que readapten la representación del EC en función del valor motivacional-afectivo del EI (Holland y Gallagher, 1999; Cardinal y otros, 2002). A nivel neuroquímico Jeanblancy otros. (2002a) observaron que durante la preexposición se modula a la baja la liberación de dopamina en el *core*, provocando una atenuación durante el condicionamiento de la asociación EC-EI aversivo. Es más, a niveles puramente fisiológicas la aplicación de TTX en la amígdala basolateral altera la liberación de dopamina en el *core* del Nac, reduciendo claramente la intensidad del condicionamiento Louilot y Besson (2000).

Además de la amígdala, el córtex prefrontal medial se ha vinculado también a la IL, concretamente a los factores relacionados con los procesos atencionales. Al igual que ocurre con amígdala e hipocampo, las proyecciones de la corteza prefrontal actúan directamente sobre la actividad dopaminérgica procedente del VTA (Cador y otros, 1991; Grace 1991; Groenewegen y otros, 1990, 1991, 1996, 1999; Louilot y Besson, 2000; Louilot y otros, 1985; Moore y otros, 1999; O'Donnell y Grace, 1998; Zahm y Brog, 1992). Los estudios electrofisiológicos muestran que su relación con el Nac está facilitada por el receptor dopaminérgico D2, que en este caso

Introducción

funcionaría a modo de autoreceptor (Floresco y otros., 2001). El bloqueo de este receptor facilitaría un incremento de liberación dopaminérgica en el Nac, de ahí que su relación con la IL lo vincule con los procesos atencionales que ocurren durante la fase de preexposición. Los datos actuales indican que al utilizar agentes antagonistas del receptor D2 durante la preexposición se facilita la IL (Weiner y Feldon, 1991). Sin embargo, las lesiones del córtex prefrontal medial no afectan a la IL (Joel y otros, 1997), dato que aumenta la confusión a la hora de discriminar su implicación.

Sistemas de neurotransmisión

Además de las estructuras del sistema mesolímbico y mesocortical descritas en el apartado anterior, los sistemas de neurotransmisión han aportado un gran volumen de información a los procesos subyacentes a la IL. Aunque la gran mayoría de estudios se han orientado a la dopamina y los receptores D1 y D2, neurotransmisores como el glutamato y la serotonina han sido también objeto de estudio. Tomados en conjunto, los datos que poseemos actualmente describen un proceso extremadamente complejo, desde el nivel conductual hasta el anatomofisiológico.

El sistema serotoninérgico ha sido escasamente estudiado en relación a los procesos de IL. El interés en este neurotransmisor radica en su estrecha relación con las drogas antipsicóticas. A medida que la IL se empezó a relacionar con rasgos específicos presentes en pacientes con trastornos psicóticos, el interés fue aumentando ligeramente (Abi-Dargham y otros, 1997; Lieberman y otros, 1998; Meltzer, 1989, 1999; Meltzer y Nash, 1991).

Han sido varios los fármacos utilizados para estudiar la IL. El núcleo del rafe ha sido diana de un gran número de ellos dada la aportación de

Introducción

núcleos serotoninérgicos que posee. Las lesiones de la parte medial de este núcleo interrumpen la IL (Solomon y otros, 1980). Sin embargo, aunque el rafe posee una gran importancia en relación al control serotoninérgico en la corteza cerebral, los datos actuales muestran que el volumen de receptores serotoninérgicos en cortex y arquicortex son fundamentales para la expresión de la IL (Cassaday y otros, 1993b; Rommelspacher y Strauss, 1980; Solomon y otros, 1980; Williams y Azmitia, 1981). Sabemos actualmente que la distribución de receptores serotoninérgicos es desigual en el sistema nervioso central. El 5HT1A se encuentran ampliamente distribuido por el núcleo del rafe, hipocampo, septum, córtex entorrinal y amígdala. Por su parte, los receptores 5HT2A se hallan fundamentalmente en el córtex cerebral (Barnes y Sharp, 1999; Cornea-Herbet y otros, 1999; Lanfumey y Hanon, 2000; Marek y Aghajanian, 1998; Uphouse, 1997; Vertes y otros, 1999). Esta quizás podría ser la razón por la que diferentes fármacos afectan a la expresión de la IL de forma desigual. Por ejemplo, el uso del antagonista del receptor 5HT2A ritanserín interrumpe la IL (Shadach y otros, 2000; Weiner y otros, 2003). Este fármaco, al igual que la clozapina y la risperidona, se muestra efectivo especialmente durante la fase de preexposición. Sin embargo, los efectos de otro antagonista con alta afinidad por el 5HT2A, el M100907 no produjo efectos sobre la IL (Moser y otros, 1996). Estos resultados contradictorios señalan la posibilidad de diferentes acciones de este neurotransmisor para modular la liberación de otros, especialmente la de dopamina.

Introducción

Los resultados de la acción de los fármacos que bloquean la actividad de la serotonina parecen tener un claro efecto sobre la relación EC- ausencia de consecuencias. Es decir, efectos claros sobre la exposición de un estímulo sin consecuencias. Estos datos indican que los factores atencionales juegan un papel fundamental a la hora de procesar los estímulos, y que el bloqueo de los receptores serotoninérgicos provocan una incapacidad en el animal para procesar la irrelevancia de estímulos sin consecuencias (Deakin, 1983; Jacobs y Fornal, 1995; Lucki, 1998; Nakamura y Kurasawa, 2000; Robbins, 1997; Rueter y Jacobs, 1996; Segal, 1982; Sirvio y otros, 1994; Soubrie, 1986; Spont, 1992; Tye y otros, 1977; Vertes y otros, 1999; Winson y Abzug, 1977). De ahí su efecto específico durante la fase de preexposición.

Otro de los neurotransmisores que se ha estudiado a fondo por su relación con los factores relacionados con la esquizofrenia ha sido el glutamato (Abi-Saab y otros, 1998; Carlsson y otros, 1999; Javitt y Zukin, 1991; Jentsch y Roth, 1999; Olney y Farb, 1995; Tamminga, 1998, 1999). El receptor NMDA ha centrado gran parte de la atención por su implicación en los procesos de plasticidad sináptica y en los fenómenos madurativos del cortex prefrontal. Al igual que ocurriera con la serotonina, los resultados obtenidos tras la administración de antagonistas glutamatérgicos muestran resultados contradictorios. La administración de MK-801 en hipocampo dorsal no parece tener efectos sobre la IL (Zhang y otros, 2000). Contrariamente, el bloqueo selectivo con APV sobre la amígdala basolateral

durante la preexposición si ejerce una clara influencia sobre la expresión de la IL (Traverso y otros, 2010). Estos datos reflejan que probablemente la actividad del glutamato esté relacionada más con fenómenos de plasticidad neural que con el proceso en sí. Es decir, al actuar sobre estos receptores los sujetos pierden toda capacidad de readaptar su comportamiento ante situaciones nuevas. En este sentido, los cambios de contingencia entre la fase de preexposición y condicionamiento se ve claramente afectado por la incapacidad de reorientar la conducta hacia nuevas asociaciones, que en este caso sería EC-EI. Geisler-Salomon y Weiner (2003) analizaron experimentalmente este efecto usando un procedimiento experimental de respuesta emocional condicionada. La administración sistémica de MK-801 no afectó a la expresión de IL, sino más bien a la persistencia de esta. Es decir, que los sujetos se mostraban incapaces de adquirir nuevas respuestas en relación a la fase de condicionamiento, y por tanto una escasa capacidad de responder de forma diferente al EC. Este mismo efecto aparece tras la administración del fármaco durante la fase de condicionamiento, reduciendo claramente la capacidad del animal para readaptar su respuesta (Geisler-Salomon y Weiner, 2003). Los resultados apoyan la hipótesis de la implicación de los receptores NMDA en los procesos plásticos, más que de forma específica en la IL. Por tanto, su peso en los procesos de IL quedaría reducido a los fenómenos de plasticidad sináptica que aparecen en los procesos de aprendizaje (Carlsson y Carlsson 1989, 1990a, 1990b; Moghaddam et al. 1997; Svensson 2000; Jentsch y Taylor 2001; Traverso,

2003, 2009).

Dentro de este marco si es interesante plantear la posibilidad de la actividad glutamatérgica en el Nac. La administración sistémica de antagonistas del NMDA competitivos, como es el caso del APV, o no competitivos como el MK801, podría estar interrumpiendo la actividad fásica de liberación dopaminérgica en el Nac, que si presenta una relación directa con la IL (Gray y otros, 1995; Weiner y Joel, 2002). Las proyecciones desde ATV sobre el Nac podrían estar afectadas debido a la interrupción o reducción de actividad de células liberadoras de dopamina. Esta liberación incrementa cuando un estímulo aumenta su saliencia, bien por su aparición sorpresiva o por cambios en las contingencias (Chergui y otros, 1993; Mathe y otros, 1998, 1999; Westerink y otros, 1997; Wu y otros, 1999). Así, esta incapacidad para incrementar la relevancia adquirida por un estímulo tras la asociación con un EI es lo que podría explicar la persistencia de la IL en sujetos tratados con antagonistas del receptor NMDA (Mathe y otros, 1998, 1999; Svensson, 2000).

La proyección dopaminérgica desde ATV hacia el Nac ha acaparado gran parte de la atención de la hipótesis dopaminérgica de la IL. La administración de agentes agonistas como las anfetaminas y antagonistas como el haloperidol provocan efectos inversos en la expresión de la IL (Peters y Joseph, 1993; Weiner y otros, 1997b; Weiner, 2003). Este efecto es extensible a las drogas antipsicóticas, bien sean típicas o atípicas. La capacidad para reducir la actividad dopaminérgica de estas drogas facilita el

Introducción

proceso de inatención al futuro EC. Esto es evidente durante la fase de condicionamiento, donde los sujetos presentan un bajo grado de atención al EC potenciado por la droga durante la fase de preexposición. Por el contrario, los estimulantes incapacitarían al animal para reducir su atención al futuro EC. La consecuencia de ello es una ausencia o reducción de la IL debido al aumento atencional al EC durante el condicionamiento (Weiner, 2003). Es decir, que la estimulación de la transmisión dopaminérgica interfiere sobre la asociación estímulo no evento, y por tanto facilitando el cambio rápido la asociación EC-EI. Por el contrario, el uso de antagonistas dopaminérgicos facilita la actividad durante la preexposición reduciendo la asociación EC-EI durante la fase de condicionamiento.

Otra de las funciones asociadas a la dopamina en el aprendizaje asociativo que implica la expresión de la IL, está relacionada con la discrepancia entre los resultados obtenidos y los previstos. Iordanova, Westbrook & Killcross (2006) emplearon el paradigma de bloqueo para mostrar que esta discrepancia de aprendizaje se reduce a mayor activación de dopamina después de una perfusión en el Nac de la d-anfetamina, y aumenta por el bloqueo dopaminérgico después de una perfusión en el Nac por infusiones combinadas de antagonistas de D1 (SCH 23390) y D2 (sulpiride), pero no por infusión de un solo antagonista. En concreto se sugiere que la dopamina en el Nac modula la capacidad para regular el aprendizaje sobre otros predictores más pobres, y en la ausencia de cualquier factor de predicción, no tiene ningún efecto. Esto se refleja en las

Introducción

teorías del procesamiento de aprendizaje predictivo, que sostienen que el establecimiento de relaciones asociativas depende de la capacidad de un EC para acceder al procesamiento atencional. Por lo tanto, los resultados muestran para el aprendizaje del miedo implica la estimulación de dopamina en el Nac, mientras que la reducción de la estimulación o el bloqueo de la estimulación de dopamina en Nac reduce el procesamiento y los estímulos resultan pobres predictores (Iordanova, Westbrook & Killcross, 2006).

Toda esta actividad está controlada por la proyección ATV-Nac. Los estudios electrofisiológicos indican que niveles de dopamina tónicos y fásicos se modulan según las entradas de, entre otras áreas, corteza prefrontal, hipocampo y amígdala (Grace y otros, 2000, 2002; Grace, 1991; Gray y otros, 1995). La IL es claramente dependiente de este sistema, incrementando la expresión cuando aparece un aumento fásico y disminuyendo cuando se reduce por estimulación de las células del ATV, amígdala, hipocampo y córtex prefrontal (Binder y otros, 2001, 2002; Grace y otros, 2000, 2002; Tzschentke, 2001).

Introducción

***Sistema mesolímbico y actividad dopaminérgica:
Un modelo funcional de la IL.***

Uno de los modelos más interesantes a la hora de explicar la IL tanto a nivel conductual como neurofisiológico es el *switching model* o modelo del cambio (Weiner, 1990, 2003). Este modelo integra elementos conductuales, anatómicos y fisiológicos para explicar los procesos subyacentes a la fase de preexposición al futuro EC y la fase de condicionamiento o asociación EC-EI. Para ello utiliza al Nac como eje central del fenómeno adjudicando a las áreas *shell* y *core* roles diferentes. Así lo avalan estudios recientes, que indican que las lesiones del *shell* interrumpen la IL mientras que las del *core* provocan el efecto contrario, es decir, una persistencia de la IL. Estos efectos están modulados por diferentes áreas del sistema límbico, cuya alteración provocan efectos similares a los descritos en *shell* y *core*. Dada la importancia de la modulación dopaminérgica que realizan sobre estas áreas, la lesión de la corteza entorrinal también interrumpe la expresión de la IL (Coutureau y otros, 1999, 2000,2002; Shohamy y otros, 2000; Yee y otros, 1997). De igual modo, la lesiones de hipocampo o amígdala basolateral

Introducción

generan un efecto similar a la lesión de *core*, esto es, una persistencia de la IL (Cardinal y otros, 2002; Cassaday y otros, 1993b; Holland y Gallagher, 1999; Honey y Good 1993; Jeanblanc y otros, 2002a; Louilot y Besson, 2000; Pouzet y otros, 1999; Weiner y otros, 1998).

El modelo propone que durante la preexposición se genera un aprendizaje de la asociación EC-ausencia de consecuencias y, posteriormente durante el condicionamiento, el animal aprende la asociación EC-EI (Weiner, 2003). Estas dos asociaciones entrarían en conflicto durante la fase de prueba. Es decir, competirían por su expresión. Y es el Nac el encargado de seleccionar el tipo de respuesta a expresar. Concretamente, sería el *core* el sistema donde se produciría el cambio, es decir, la expresión de la asociación EC-EI realizada durante el condicionamiento. Este núcleo es inhibido por el *shell*, que facilitaría la expresión de la IL o de la asociación EC-ausencia de consecuencias. Es decir, que el *shell* es el encargado de inhibir el mecanismo de cambio y por lo tanto la expresión de la relación EC-EI. Una fase de preexposición reducida o un condicionamiento muy intenso podrían inhibir la actividad del *shell* y expresar la relación EC-EI.

Actualmente desconocemos como la información alcanza estas subestructuras. La unión entre *shell* y *core* parece formar un bucle que implica a varias estructuras del diencefalo, sistema límbico y del estriado. Una de las posibles vías descritas sería la que parte del *shell* hasta el pálido ventral, tálamo y corteza frontal antes de alcanzar el *core* (Zahm y Brog, 1992; Zahm, 1999). El otro es el que avanza hasta el ATV y proyecta desde

Introducción

esta área hasta el *core* (Berendse y otros, 1992; Groenewegen, 1991, 1996; Otake y Nakamura, 2000; Zahm y Brog, 1992). Esta última parece ser la responsable de inhibir los mecanismos de cambio debido a que esta proyección es dopaminérgica y la actividad del *shell* estaría dirigida a inhibirla. Es decir, que su actividad estaría orientada a reducir los niveles de expresión dopaminérgica en el Nac, necesarios para establecer asociaciones entre estímulos. A nivel conductual esto se traduce como una reducción en la expresión de la asociación EC-EI.

Tanto *shell* como *core* reciben aferencias de estructuras relacionadas con diversos procesos implicados en el aprendizaje. Por ejemplo, las lesiones de hipocampo (Honey y Good 1993) o del subiculum ventral (Quintero y otros, 2011b) provocan efectos similares a la lesión del *core*. Es decir, que las estructuras que parecen procesar la información del contexto modulan la expresión de la actividad del *core*. Quintero y otros (2011b) observaron que tras la lesión del subiculum ventral se reducía la especificidad contextual de la IL. Así, los cambios en el contexto provocan una activación del *core* (Phillips y LeDoux, 1992; Myers y Gluck, 1994; Fanselow, 2000), una inhibición del *shell* y por tanto se aprecia el efecto de especificidad contextual. Sin embargo, la lesión de subiculum ventral no permite un adecuado procesamiento del contexto, generando una expresión de la IL y ausencia del fenómeno de especificidad contextual. Estos efectos también aparecen con la lesión de la amígdala basolateral (LeDoux, 1992; Robbins y otros, 1989; Robbins y Everitt, 1996), pero en estos casos

relacionados con procesos que afectan a la magnitud del reforzador durante la fase de condicionamiento. El efecto contrario se halla por ejemplo tras la lesión de córtex entorrinal, estructura encargada de activar al *shell* para inhibir el cambio o expresión del condicionamiento (Pouzet y otros, 1999; Totterdell y Meredith, 1997; Weiner y otros, 1998; Yee y otros, 1995). En resumen, el factor del cambio se encuentra en el *core*. Dependiendo de su actividad los sujetos mostrarán una IL normal, atenuada o incrementada.

El Nac como sistema integrador de funciones.

El Nac es el centro de control donde proyectan diferentes áreas del sistema mesolímbico y mesocortical. Sin embargo, no sabemos con exactitud las zonas donde la proyección de la corteza entorrinal, hipocampo y amígdala ejercen su función moduladora de la IL. En este sentido los estudios electrofisiológicos nos han ayudado a entender un poco más como podría articularse el sistema. Sabemos que tanto al ATV como a la *core* llegan proyecciones desde la amígdala e hipocampo. Puede que los cambios en el procedimiento experimental, como una variación en el contexto de aprendizaje o variaciones en la magnitud del reforzador, faciliten el incremento de liberación dopaminérgica desde ATV al Nac. Esto tendría como resultado una reorientación de la respuesta del animal ante esta situación nueva (Pennartz y otros, 1994; Redgrave y otros, 1999; Weiner y Joel, 2002). Es decir, que los cambios relacionados con la predicción de error, o entre lo que se espera y lo que se obtiene, facilitan la readaptación del

Introducción

animal en su entorno. Y todo ello parece claramente mediado por las neuronas dopaminérgicas del sistema mesolímbico (Schultz, 1998). Al alcanzar el *core*, se estaría facilitando el mecanismo de cambio. Queda por saber que función desarrolla el *shell* en esta situación. Actualmente creemos que no es más que una competición entre diferentes tipos de respuesta, dado que la actividad del *shell*, sobre el ATV mediada por el córtex entorrinal, quedaría ensombrecida por los cambios sucedidos durante la fase experimental (cambios de contexto o de magnitud del reforzador). Sin cambios, la respuesta mediada por el *shell* prevalece, mostrando una IL normal.

La implicación de la amígdala es controvertida en la IL. Durante la fase de preexposición el futuro EC puede asociarse con un valor hedónico o predictor cercano a cero. Es decir, que tendría más sentido implicarla en la fase de condicionamiento, donde el EC si adquiere un valor sustancial a nivel predictivo. Curiosamente la lesión de la amígdala provoca una persistente IL, probablemente porque el condicionamiento deja de ser efectivo (Weiner, 2003). Sin embargo, Traverso y otros (2010) hallaron que la amígdala basolateral posee además capacidad para asociar un EC con la ausencia de evento. Mediante el bloqueo de los receptores NMDA utilizando APV, un antagonista competitivo, observaron una ausencia de IL. En este sentido, la amígdala basolateral podría jugar un doble papel. Por un lado, facilitar la relación EC-ausencia de consecuencias; por otro, actuar sobre los procesos perceptivos de un estímulo reduciendo su capacidad para almacenar

información a largo plazo sobre este. En cualquier caso, la función de la amígdala es bastante compleja dada su relación con los procesos asociativos y perceptivos (Weiner, 2003).

De igual modo, parece claro que durante la preexposición, la corteza entorrinal adquiere un papel preponderante al ser la encargada de la codificación EC-no evento. En este sentido, el hipocampo no parece tener una función menos relevante como han demostrado varios estudios. Su vinculación parece asociada al contexto. Esto hallaron Honey y Good (1993) con la lesión de hipocampo y Quintero y otros (2011b) con la lesión del subiculum ventral. Sin cambio de contexto, la IL se muestra con toda normalidad. Sin embargo, los cambios de contexto no provocan el efecto observado de especificidad contextual descrito cuando existe un cambio contextual entre la fase de preexposición y condicionamiento (Quintero y otros, 2011a). Es decir, que tras el bloqueo del hipocampo lo que se observa en una IL independiente de contexto (Honey y Good, 1993; Quintero y otros, 2011a, b), y una implicación directa del hipocampo en la relación EC-ausencia de consecuencias.

Los receptores dopaminérgicos D1 y D2

La función del neurotransmisor dopamina ha acaparado un gran interés debido a su relación con los procesos de aprendizaje y con un variado número de trastornos mentales, como la esquizofrenia, y la adicción a sustancias de abuso (Feldman y otros, 1997; Grace and Sesack, 2010;

Introducción

Milad and Rauch, 2012; Robbins, 1992; Simpson et al, 2010; Wise, 2010). En el sistema nervioso central la distribución de neuronas dopaminérgicas es abundante, presentando un valor especial para los procesos de aprendizaje las neuronas del mesencéfalo y los sistemas que forman. Estas pueden agruparse en varios sistemas, de los cuales nos centraremos en los sistemas largos. Estos incluyen a las neuronas de la región retrorubral, del ATV y de la sustancia negra compacta, que proyectan al neostriado (caudado y putamen), la corteza límbica, hipocampo, cortex entorrinal, amígdala y Nac. Es decir, los sistemas dopaminérgicos mesolímbico y nigroestriado.

Los receptores dopaminérgicos pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G. Todos poseen 7 dominios transmembranales y se han definido, según sus características moleculares, cinco subtipos de receptores dopaminérgicos. Estos han sido agrupados en 2 familias farmacológicas según el efecto que producen los agonistas y antagonistas. La familia D1, que incluyen a los subtipos de receptores D1 y D5, estimulan a la enzima adenilil ciclasa, produciendo AMPc. Por su parte, los receptores de la familia D2, que incluyen a los subtipos D2, D3 y D4 inhibe la formación de AMPc.

El D1 es el receptor más abundante en el sistema nervioso central (Missale y otros, 1998). La mayor concentración de este receptor se halla en neostriado, Nac, amígdala y sustancia negra. Sin embargo, su afinidad por la dopamina es relativamente baja. Por su parte, el receptor D2 se encuentra en concentraciones altas en el neostriado (neuronas GABAérgicas) y en el

Introducción

Nac, además de hipocampo, mientras que su densidad es moderada en la sustancia negra, la corteza cerebral, el globo pálido, tálamo e hipotálamo. Este tipo de receptor puede modular la actividad iónica celular mediante la inhibición de los canales de calcio o activando las corrientes de potasio mediante la apertura de canales dependientes de voltaje.

Ambas familias han sido relacionadas con varios tipos de enfermedades, como el Parkinson, donde la reducción de neuronas dopaminérgicas es la causa principal. Así mismo, la esquizofrenia se ha relacionado directamente con alteraciones en los niveles de dopamina y en el volumen de receptores dopaminérgicos. En este sentido, la familia de receptores D2 parecen tener una mayor relación con el proceso patológico (Grace and Sesack, 2010; Milad and Rauch, 2012; Simpson et al, 2010; Wise, 2010), dado que los antagonistas de estos receptores, como el haloperidol, son efectivos en la reducción de los síntomas (Weiner, 2003). Esta es la razón por la que se ha propuesto que en la base del trastorno subyace un considerable aumento de este tipo de receptores, como indican por ejemplo los estudios de tejido postmortem (Seeman y Nizkik, 1990). Es más, el desarrollo de antipsicóticos atípicos, selectivos de la familia D2, reduce los síntomas extrapiramidales. Estos síntomas parecen ser dependientes de los receptores D1 y D2 localizados en el estriado dorsal, pero la reducción de los síntomas de la enfermedad parecen relacionados específicamente con el bloqueo de D2 en la corteza cerebral.

Otra de las funciones de la dopamina es la relacionada con el

Introducción

aprendizaje y con los trastornos adictivos (Koob, 1992; Pierce y Kumaresan, 2006; Robbins y Everitt, 1996; Weiner, 2003; Weiner y Feldon, 1997). Las vías dopaminérgicas del ATV en dirección al Nac están vinculadas estrechamente a los procesos motivacionales del aprendizaje (Berridge y Robinson, 1998; Berridge, 2009; Salamone y Correa, 2002). Así lo indican el consumo de drogas estimulantes como la cocaína o las anfetaminas, cuya función incrementan notablemente la liberación, o reducen la recaptación, de dopamina en el sistema. Pero con independencia de su implicación en los procesos adictivos y motivacionales, la dopamina se ha relacionado directamente con los procesos de IL (Weiner, 2003; Weiner y Feldon, 1997). La administración de estimulantes como la anfetamina produce una clara atenuación de la IL (Ellenbroek et al, 1997), mientras que la administración de antagonistas como el haloperidol o sulpiride produce un incremento de ésta (Weiner, 2003; Weiner y Feldon, 1997).

Estos resultados hacen de los receptores D1 y D2 dianas específicas del estudio de las variables que modulan la IL. Los estudios electrofisiológicos han realizado importantes aportaciones acerca de su actividad funcional en el sistema mesolímbico (Floresco y otros, 2001; Goto y Grace, 2008; Grace, 2000; Moore y otros, 1999; O'Donnell y Grace, 1998). Estos estudios son de gran relevancia dada la importancia de estos receptores en los procesos de aprendizaje asociativo. Sabemos actualmente que el receptor D2 se halla en las proyecciones de la corteza prefrontal y amigdalinas en forma de autoreceptor (Goto y Grace, 2008; Groenewegen, y

otros, 1999; O'Donnell y Grace, 1995). Es decir, se localizan en las áreas presináptica con la función de modular la actividad dopaminérgica del ATV sobre el Nac mediante las proyecciones excitatorias. Es por ello que a este receptor se le ha relacionado con los procesos dirigidos a metas o procesos controlados que requieren de una actividad atencional alta (Goto y Grace, 2008; O'Donnell y Grace, 1995). Por su parte, los receptores D1 en el sistema mesolímbico presentan una actividad diferente a la descrita por los D2. Estos se hallan en las células postsinápticas del Nac que reciben aferencias glutamatérgicas desde el hipocampo y dopaminérgicas desde el ATV (Goto y Grace, 2008; Groenewegen, y otros, 1999; O'Donnell y Grace, 1995). La actividad excitatoria de las proyecciones del subiculum modula la actividad tónica de las entradas desde el ATV (Goto y Grace, 2008). Dado el perfil de esta vía, se ha relacionado directamente el receptor D1 con el aprendizaje espacial o procesamiento del contexto. Así, los cambios de contexto pueden activar esta vía, mientras que la habituación al mismo hace reducir su tasa de disparo hasta niveles de actividad basal.

Quintero y otros (2011b) obtuvieron resultados conductuales que apoyan este modelo de funcionamiento a nivel anatómico en relación a los procesos de especificidad contextual de la IL. La proyección glutamatérgica que se proyecta desde el subiculum al Nac produce, según Floresco y otros (2001), variaciones en los niveles de dopamina en el sistema mesolímbico (Goto y Grace, 2008; O'Donnell y Grace, 1995), lo que podría afectar a la expresión de IL. El Nac podría controlar la actividad de la dopamina en el Atv

Introducción

través de la inhibición del pálido ventral, que a su vez inhibe la liberación de dopamina desde el Atv. Así, la activación subiculum ventral indirectamente aumenta la liberación de dopamina en el Atv. Este aumento de la actividad de la dopamina podría ser responsable de la atenuación de IL. Los resultados obtenidos por Quintero y otros (2011b) son consistentes con esta posibilidad, dado que la activación del subiculum ventral depende de variables contextuales. En ausencia de cambios en el contexto, las aferencias glutamatérgicas del subiculum ventral al Nac permanecerían inactivas, lo que reduce la activación de la vía gabaérgica desde el Nac al pálido ventral. Esto reduce la actividad tónica del Atv a niveles basales a través de la vía inhibitoria del pálido ventral y, por lo tanto, reducir la intensidad de la actividad de la dopamina que proyecta sobre el Nac (Floresco y otros, 2001; Goto y Grace, 2008). Sin cambios de contexto, las lesiones no provocan variaciones en la IL. Por el contrario, el cambio de contexto entre la fase de preexposición y condicionamiento podría activar fuertemente la vía glutamatérgica subiculum-Nac, que además potencia las sinapsis dopaminérgicas dependientes del receptor D1 del ATV sobre el Nac. Como consecuencia, el Nac inhibiría al pálido ventral, inhibiendo la proyección gabaérgica, lo que resulta en un proceso desinhibitorio del VTA y un consecuente incremento de la actividad dopaminérgica del VTA sobre las áreas frontales. Este aumento de la actividad dopaminérgica mediado por la posible estimulación de los receptores D1 podría causar una atenuación del efecto LI, efecto conocido como especificidad contextual. Es interesante

Introducción

observar la desaparición de este efecto en animales con lesión del subiculum ventral (Quintero y otros, 2011b), dado que las aferencias sobre el Nac estaban inactivas. La falta de estimulación dopaminérgica del Nac impidió inhibir el pálido ventral. Este hecho provocó una actividad normal en la vía gabaérgica inhibitoria del pálido ventral al VTA. Como resultado, la actividad basal en la liberación dopaminérgica se mantendría inalterada (Quintero y otros, 2011b).

Estudio de la IL y su relación con posibles alteraciones cognitivas

La IL se refiere a la observación de que bajo condiciones específicas, la preexposición sin consecuencias a un estímulo retarda la eficacia con este estímulo cuando se presenta con el reforzamiento, en comparación con un estímulo no preexposto. La farmacología de la IL ha sido asociada casi exclusivamente con el uso de un modelo animal de esquizofrenia, y por lo tanto coincide en gran medida con la farmacología de la esquizofrenia (Lubow & Weiner, 2010). Específicamente, debido a que la esquizofrenia en algunos de sus síntomas se caracteriza por una incapacidad para filtrar, o ignorar estímulos irrelevantes o sin importancia, la IL anormal se propuso como herramienta para el modelamiento de la atención deficiente en la esquizofrenia (Lubow & Weiner, 2010).

Uno de los modelos utilizados es el uso de anfetaminas para provocar una activación del sistema nervioso que impida su capacidad de discriminar entre estímulos relevantes e irrelevantes. En roedores se observa que el efecto de la anfetamina provoca un mayor aprendizaje en la condición de

preexposición (Weiner, Lubow & Feldon, 1988), siendo además inversamente dependiente de la dosis (baja dosis bloquea la IL o la atenúa, altas dosis la mantiene). La razón de esta dependencia de dosis de efecto inverso de las anfetaminas aún no está clara. Gray (1998) sugiere que las dosis bajas pueden liberar dopamina más eficazmente en el Nac que en el caudado-putamen, que es la otra región de los ganglios basales que reciben aferencias dopaminérgicas ascendentes, y que esto puede producir la dependencia de la dosis inversa de los cambios en la IL (Weiner, et al., 1988). Los efectos de la dopamina en el del Nac podrían estar favoreciendo la liberación de la IL. Además, el grado en que la anfetamina induce la liberación de dopamina parece implicar un fenómeno similar a la sensibilización. Es posible que estos aspectos de la acción de las anfetaminas provoque una curva en forma de U invertida, generando un proceso inverso dosis dependiente (Weiner, et al., 1988).

La relación de la esquizofrenia en humanos procede del uso de antipsicóticos en modelos animales para invertir el proceso descrito previamente. En roedores, la administración de antagonistas de los receptores de dopamina con propiedades antipsicóticas invierte el efecto de las anfetaminas (Gray, 1998; Weiner, 2003). Experimentalmente se han utilizado drogas antipsicóticas atípicas para definir con más precisión el peso que cada receptor dopaminérgico aporta al proceso. Feldon, Shofel y Weiner (1991) llevaron a cabo dos experimentos para conocer los efectos de la administración de antipsicóticos típicos y atípicos en un procedimiento de IL

Introducción

utilizando un modelo de respuesta emocional condicionada. El procedimiento contaba de tres etapas: 1. antes de la exposición, en la que un estímulo (tono) se presentó repetidamente sin consecuencias; 2. fase de condicionamiento, en el que el estímulo preexposto fue emparejado con una descarga, y (3) la prueba, donde IL fue evaluada respecto a la conducta de consumo por los animales durante la presentación del tono. Se les administró tan sólo diez preexposiciones, un procedimiento conocido por ser insuficiente para producir la IL en los animales normales. Es más, la IL estuvo de hecho ausente en los animales tratados con placebo. En marcado contraste, los animales tratados con haloperidol así como con sulpiride presentaron IL. Estos resultados mostraron que los neurolépticos típicos y atípicos permiten mejorar la capacidad de los animales para ignorar estímulos irrelevantes (Feldon, Shofel & Weiner, 1991). Del mismo modo, Ruob, Elsner, Weiner y Feldon (1997) evaluaron en dos experimentos la IL mediante una respuesta emocional condicionada (lick suppression). Los resultados mostraron que de todos los estímulos utilizados, la administración de fármacos antipsicóticos fue eficaz tan sólo con el estímulo utilizado durante la preexposición, en este caso un estímulo luminoso. Este resultado indica que el efecto perturbador de la anfetamina y el efecto potenciador de haloperidol en la IL son modificables mediante la manipulación de la naturaleza del estímulo preexposto (Ruob, Elsner, Weiner & Feldon, 1997).

Schmajuk, Gray & Larrauri (2004) sugieren que las células dopaminérgicas del mesencéfalo ventral están implicados en los procesos

Introducción

atencionales que modulan la acción del EC. En este sentido, esta representación se incrementa por agonistas y disminuyen con antagonistas dopaminérgicos. Las simulaciones por ordenador con el modelo describen el efecto de agentes como la nicotina y el haloperidol sobre la IL. De acuerdo a los resultados las simulaciones demuestran que tanto la nicotina como el haloperidol afectan a la IL cuando se administra durante la fase de preexposición. Además, el modelo reproduce los datos que muestran que la administración de nicotina o haloperidol participan en el deterioro o la facilitación de la IL dependiendo de la duración de EC o el número de ECs. Por lo que han concluido que el modelo demuestra que en la pre-clínica los resultados experimentales, incluyendo la actividad celular y farmacológica, son consistentes con un papel atencional para la dopamina durante el condicionamiento clásico (Schmajuk, Gray & Larrauri, 2005). De la misma forma, la IL abre una línea de la investigación en los procesos de inhibición cognitivos, en la esquizotipia y la posibilidad de estudiar otros trastornos psicopatológicos. El modelo propuesto se basa en la experimentación, premisas neuroquímicas y clínicas que lo convierten en un tema prometedor futuro para la investigación.

Las asociaciones que se realizan durante la administración de un fármaco son sumamente complejas. Por ejemplo, cuando un estímulo neutro se empareja repetidamente con un fármaco se establece una asociación entre ellos que pueden inducir dos respuestas diferentes: ya sea una respuesta oponente que contrarresta el efecto de la droga, o una respuesta

Introducción

que es similar a la inducida por el fármaco. Además, el proceso se hace aún más complejo cuando se analizan las asociaciones que se pueden establecer entre las claves contextuales y la administración de agonistas y antagonistas de la dopamina. Se ha señalado que la administración repetida de fármacos que modulan la actividad dopaminérgica en presencia de un contexto específico genera una respuesta al contexto similar a la inducida por el fármaco condicionado (Álvarez, De La Casa & Sánchez, 2003). De La Casa y Lubow (2002) han considerado que el contexto donde se desarrollan los experimentos bajo la administración de fármacos es una variable importante en la modulación de la IL. Más concretamente, el contexto funcionaría como un estímulo de tal forma que las asociaciones que se formen por parte del sujeto dependerán directamente del contexto donde se haya desarrollado. Además, se ha afirmado que cuando se emplean contextos novedosos y se hacen claramente discriminables, incluyendo por ejemplo cambios en la iluminación, en el olor, en la temperatura y en la superficie de las cajas la IL parece exhibirse sensible a las manipulaciones contextuales desarrolladas entre las diferentes fases experimentales (Quintero y otros, 2011a). Para probar el efecto que tiene el cambio de contexto sobre el sistema mesolímbico se realizaron dos experimentos utilizando un procedimiento de inhibición pre-pulso. Los resultados revelaron que las señales contextuales adquirieron la propiedad de modular la inhibición pre-pulso por emparejamientos anteriores del contexto con el antagonista dopaminérgico haloperidol y con el agonista dopaminérgico d-

anfetamina. Las implicaciones de estos resultados son interesantes debido a las posibilidades que podrían implicar el uso de claves del contexto para la administración terapéutica de los fármacos dopaminérgicos. En este sentido, un contexto emparejado repetidamente con un antagonista de dopamina o con un agonista del mismo podría adquirir la propiedad de provocar una RC similar a la producida por el fármaco (De la Casa, Mena, Orgaz & Fernández, 2013).

El papel principal del Nac es restringir la expresión de la IL a ciertas condiciones, y de esta manera asegurar que la IL es flexible y sensible a las demandas ambientales. Es importante destacar que, en ausencia de mecanismos moduladores responsables de restringir la expresión de la IL a las condiciones específicas, los efectos de un estímulo intrascendente a la preexposición habrían sido extremadamente robustos y de una mala adaptación, generalizando a través de contextos y contrarrestando la expresión de su condicionamiento posterior al estímulo. En este sentido, se cree que la IL refleja los procesos psicológicos que están deteriorados en la esquizofrenia, mostrando los pacientes una IL reducida. La identificación de regiones cerebrales, cuyo daño conduce a interrumpir la IL frente a la persistencia de ésta en modelos animales, puede proporcionar indicaciones valiosas en los circuitos cerebrales disfuncionales en esquizofrenia (Gal, Schiller & Weiner, 2005). Ya en décadas anteriores se sugería que algún tipo de hiperactividad de los sistemas de dopamina representaba una alteración

Introducción

bioquímica primaria en la esquizofrenia y que en apariencia constituía al menos una justificación plausible de alteración bioquímica en dicho trastorno (Iversen, 1976; Matthysse, 1978). Por otro lado la entrada mesocortical de la dopamina y la corteza prefrontal juegan un papel crítico en el proceso cognitivo normal y en varias patologías neuropsiquiátricas. Esta entrada de dopamina regula los aspectos de la función de la memoria de trabajo, la planificación y la atención. Del mismo modo, algunas disfunciones pueden ser la base de una gran variedad de síntomas positivos y negativos, y por tanto de muchos de los déficits cognitivos asociados con la esquizofrenia. A pesar de una intensa investigación, todavía tenemos una gran falta de comprensión acerca de los principios básicos de la actividad de la dopamina en la corteza prefrontal. En los últimos años, ha habido un esfuerzo considerable por parte de muchos grupos para entender los mecanismos celulares de la modulación de la dopamina en las neuronas de la corteza prefrontal. Sin embargo, los resultados de estos esfuerzos han conducido a contradicciones y controversias (Nieoullon, 2002). Una de las propuestas de mayor consenso en relación a la función de la dopamina es que actúa como un neuromodulador, y no es claramente un neurotransmisor excitador o inhibitor. Muchas teorías modernas de aprendizaje suponen que la cantidad de atención a una señal depende de lo bien que la señal predice el acontecimiento importante del pasado. La esquizofrenia está asociada con un déficit en la atención y las teorías recientes de la psicosis han argumentado que los síntomas positivos como delirios y alucinaciones están

relacionados con una falta de atención selectiva. Actualmente sabemos que los pacientes con diagnóstico de esquizofrenia, que presentaban síntomas positivos severos, muestran una clara dificultad para discriminar entre claves predictivas y no predictivas en relación a adultos sanos. Además, el índice de aprendizaje sobre las señales no predictivas correlaciona positivamente con síntomas positivos más graves en la esquizofrenia. Estos resultados sugieren que los síntomas positivos de la esquizofrenia están relacionados con una mayor atención, tanto a las señales que son susceptibles de ser predictivas como a aquellas que no son predictivas durante el aprendizaje causal. Este déficit en la atención selectiva es el resultado del aprendizaje de las asociaciones causales irrelevantes (Morris, Griffiths, Le Pelle & Weickert, 2013).

Con independencia de los efectos de la dopamina, algunos resultados sugieren la existencia de al menos otros tres señales moduladoras que parecen funcionar de manera análoga a la propuesta de la dopamina (Fiorillo, 2013). Existe considerable evidencia derivada de estudios *in vitro* que apoya la hipótesis de que desequilibrios de oxitocina en la interfase materno-fetal podrían estar implicados críticamente en la mediación de los efectos de infección prenatal en el cerebro y el desarrollo del comportamiento. De este modo se incrementa el riesgo de trastornos de desarrollo neurológico que originan la esquizofrenia. Específicamente, la ruptura del equilibrio de oxitocina en el cerebro fetal podría conducir a múltiples anormalidades del comportamiento en la edad adulta. Esto sugiere

Introducción

que los cambios relativos entre distintas clases de oxitocina pueden determinar el desarrollo neurológico final con implicación de las condiciones infecciosas prenatales (Meyer, Feldon & Yee, 2009). Es evidente que aún queda mucho trabajo por delante, tanto en la búsqueda de cada uno de estos modelos como en la forma en que puedan acoplarse entre sí como un modelo teórico neuropsicológico unificado (Gray, 1998).

Introducción

El contexto como variable experimental en la IL

La inclusión del contexto como variable experimental multiplica la complejidad del proceso de la IL. En cualquier situación experimental el contexto desempeña un papel modulador necesario para discriminar la respuesta de un sujeto ante un mismo estímulo. En este sentido, las RCs al EC que aprende un sujeto no es la simple asociación entre EC-EI. La respuesta al EC viene modulada por diferentes asociaciones. La asociación contexto-EI, contexto-EC y por supuesto la EC-EI (Medin y Reynolds, 1985; Thomas, 1985). Es decir, que la efectividad de la RC depende de la efectividad de todas estas asociaciones de forma independiente, de tal modo que un cambio en el contexto afecta directa e indirectamente en la expresión de la respuesta (Bouton y Bolles, 1985; Durlach, 1982; Gabriel, 1972; Holland, 1983; McAllister y McAllister, 1965; Millar y Schactman, 1985; Randich y Ross, 1985; Rescorla, 1984; Rescorla y otros, 1985; Tomie, 1985). Sin embargo, y con independencia de la lógica del proceso, su inclusión en los modelos asociativos ha generado cierto conflicto. Las que utilizaremos en el presente trabajo están orientadas al uso del contexto como elemento

liberador de la posible ambigüedad que pueda presentar un EC (Bouton y Bolles, 1985; Thomas, 1985). Es decir, en aquellas situaciones donde el valor predictivo de un EC entra dentro de una situación ambigua, un escenario que es el eje central de la IL.

En este sentido existen numerosos trabajos que analizaron la función del contexto sobre IL. Hall y Channell (1986) usando la ACS hallaron que al utilizar la jaula hogar durante la fase de preexposición se facilitaba el proceso de especificidad contextual de la IL. Esto es, que la exposición a un sabor retrasó la aversión a éste durante la fase de condicionamiento; mientras que el cambio de contexto facilitó el proceso de condicionamiento. Más concretamente, el contexto estaría actuando como clave condicional señalando si un EC va no seguido de una consecuencia (Channell y Hall, 1983; Hall y Channell, 1986; Lovibond et al., 1984).

Quintero y otros (2011a) fueron un paso más allá en la interpretación del contexto introduciendo el concepto de familiaridad. Como ya adelantaban Mitchell y otros (1981), Archer y otros (1985) y McLaren y otros (1994) sobre la intensidad con la que se evalúa en un proceso de aprendizaje aversivo el EI, la IL se potencia cuando se utiliza un contexto familiar durante la fase de test. Los resultados de su estudio indicaron que si la fase de preexposición y condicionamiento se realiza en un contexto diferente a la jaula hogar, la fase de prueba en la jaula hogar mostrará un efecto de potenciación de la IL o superinhibición latente. Es decir, que la interpretación de un EC dentro de contexto familiar provoca una atenuación del condicionamiento aversivo

(Quintero y otros, 2011a).

Los resultados obtenidos sobre exposición de estímulos y modulación contextual del condicionamiento no sólo se han realizado usando el paradigma de ACS. Westbrook y otros (2000), mediante la preexposición del futuro EC a diferentes contextos, analizaron la modulación de respuesta de *freezing*. Los cambios de contexto entre la fase de preexposición y condicionamiento incrementaron la respuesta de *freezing* en comparación a aquellos sujetos que realizaron todo el proceso en el mismo contexto. Y al igual que Quintero y otros (2011a), observaron que la menor RC se obtuvo cuando el contexto para las fases de condicionamiento y prueba fue distinto. En resumen, que existe un incremento de la IL cuando el contexto de condicionamiento y prueba son diferentes (Quintero y otros, 2011a; Westbrook y otros, 2000).

En el presente trabajo profundizaremos un poco más en relación a esta variable y la función de los receptores dopaminérgicos D1 y D2. Esta aproximación intentará avanzar por un lado en los aspectos teóricos que median los procesos de adquisición y recuperación de estímulos durante un proceso de IL; por otro, entender la implicación de diferentes receptores en las relaciones contexto-EC, contexto-EI y por último la asociación EC-EI.

Introducción

El paradigma de la aversión condicionada al sabor y su uso en los procesos de inhibición latente.

El uso de estímulos sápidos ha sido utilizado con frecuencia en estudios de aprendizaje debido a su naturaleza adaptativa. Además de su interés en sí, los procesos asociativos que utilizan estímulos aversivos han sido de gran interés en psicología y neurociencia. Los modelos de aprendizaje apetitivo y/o de preferencia de sabor, junto a la aversión condicionada al sabor, han sido los más utilizados (Bermúdez-Rattoni, 2004, Bermúdez-Rattoni y otros, 2005; Bures y otros, 1998). Concretamente, en el presente trabajo hemos utilizado para nuestros experimentos este último, debido a su fácil manipulación y versatilidad para manejar contextos de exposición.

Los procedimientos experimentales para obtener Acs son relativamente simples. Este se obtiene tras la presentación de un sabor, que hará en esta ocasión de EC, y la posterior asociación con un proceso de malestar provocado por la administración de un EI, en nuestro caso cloruro de litio (LiCl). El EC más comúnmente utilizado en ratas ha sido una solución

Introducción

de sacarina, mientras que el EI varía según el objetivo del trabajo. Generalmente suele ser una solución de LiCl de administración intraperitoneal aunque también han sido utilizados procedimientos como la administración de giros o radiaciones (Bures y otros, 1998, Hutchison, 1973, Islam, 1978, Smith y otros, 1964).

En relación a la IL, la Acs ha sido también frecuentemente utilizada. El procedimiento es simple, administrar el EC en una fase de preexposición de duración variable para posteriormente emparajar con el EI aversivo. La fase de prueba posterior evalúa el grado de devaluación del EC medido por la ingesta de este. Reilly y Bornovalova (2005) tasan el proceso en cinco fases diferentes. Inicialmente el procesamiento del futuro EC. La siguiente fase estaría orientada al procesamiento del EI, es decir, al estímulo aversivo que daría paso a la asociación del EC con el EI. Esta última asociación sería la tercera fase. La fase cuarta sería la fase de recuperación, mientras que la quinta sería la de expresión de la asociación EC-EI. Aunque simple a primera vista, la asociación EC ausencia de consecuencias y EC-EI no es del todo tan simple. Existen un gran número de factores que modulan la expresión de la IL (Lubow, 2008). Factores como el número de preexposiciones o fases del experimento, la neofobia, el proceso de contracondicionamiento y los contextos, tanto temporales como espaciales, generan variaciones considerables en la expresión del fenómeno (Domjan, 1976; De la Casa y Lubow, 2000; Lubow, 1989; Lubow y De la Casa, 2005; Rodríguez y Alonso, 2004; Siegel, 1974; Wheeler y otros 2004).

Procesamiento neural del sabor

Actualmente se conoce relativamente bien el procesamiento que realiza el sistema nervioso ante la presentación de sabores. El proceso parece iniciarse en el núcleo del tracto solitario bajo la actividad de los nervios craneales facial, glossofaríngeo y vago (Bermúdez-Rattoni, 2004; Contreras, Beckstead y Norgren, 1982; Hamilton y Norgren, 1984; Yamamoto, 2006; Yamamoto y otros, 1994). A continuación se alcanzaría el núcleo parabraquial, con una doble función. Las áreas mediales del núcleo parabraquial se relacionan con información gustativa, las de la zona lateral se relacionan con las sensaciones viscerales (Bielavska y Roldan, 1996; Sacchetti y Bielavska, 1998; Reilly, 1999; Sakai y Yamamoto, 1999; Smith y St John, 1999; Yamamoto y otros, 1994, 1995). El núcleo parabraquial recibe a su vez información de un gran número de áreas relacionadas con el procesamiento del sabor. Estas permiten la modulación de la información permitiendo una actividad adaptativa (Bermúdez-Rattoni, 2004, Bermúdez-Rattoni y otros, 2005; Fulwiler y Saper, 1984; Karimnamazi y Travers, 1998; Saggu y Lundy, 2008).

La corteza insular ha sido relacionada directamente con la memoria al sabor (Bermúdez-Rattoni, 2004; Bermúdez-Rattoni y otros, 2004; Bures y otros, 1998). Quintero y otros (2014) analizaron la función de las áreas granular y agranular de la corteza insular en el procesamiento de un sabor en diferentes contextos. Los resultados indicaron una clara dependencia de contexto en el control de sabores, apoyando la propuesta de la activación de

la capa granular ante estímulos sápidos (Bermudez-Rattoni y McGaugh, 1991; Braun, 1990; Nerad y otros, 1996; Cubero y otros, 1999; Ormsby y otros, 1998). Estudios con la expresión el gen c-fos muestran una mayor actividad antes sabores novedosos que ante sabores familiares (Koh y otros, 2003; Koh y Bernstein, 2005). Y la lesión de esta área bloquea la capacidad del animal para discriminar entre estímulos sápidos familiares y novedosos (Koh y otros, 2003). Este hecho hace que la corteza insular sea una estructura esencial en la asociación EC-EI (Arcolla y Carleton, 2008; Grinvald y otros, 1999).

Otra de las estructuras vinculada directamente a la memoria del sabor ha sido la amígdala. Vinculada al núcleo parabraquial y el núcleos del tracto solitario a través de la amígdala central, y con la corteza insular a través de la amígdala lateral y basolateral (Fulwiler y Saper 1984; Krettek y Price, 1977; McDonald y otros, 1999; Price, 2003; Ricard y Koh, 1978; Traverso y otros, 2010), la lesión o bloqueo de esta estructura reduce la capacidad de adquirir Acs.

De igual forma, el córtex perirrinal presenta una actividad similar a la amígdala, dado que su bloqueo reduce la Acs durante el consumo, pero no tras este y la aparición de malestar (Gutierrez y otros, 2004; Tassoni y otros, 2000).

Objetivos e hipótesis

Objetivos e hipótesis

El objetivo general del presente trabajo se centra en el análisis de los receptores dopaminérgicos implicados en la IL. Específicamente se analizarán los receptores de dopamina D1 y D2 mediante la administración de antagonistas. Además, se analizará la posible relación de estos receptores con los factores moduladores de la IL. Concretamente se utilizará el fenómeno de la especificidad contextual para evaluar la implicación concreta de estos receptores en cada una de las fases que median el proceso de la IL.

El presente trabajo desarrollará 4 experimentos con los siguientes objetivos.

1. El primer experimento analiza el efecto sobre la IL de dos agentes antagonistas dopaminérgicos directos, Sulpiride (antagonistas de receptores dopaminérgicos D2) y SCH-23390 (antagonista de los receptores dopaminérgicos D1). Concretamente se analizan los efectos que sobre la recuperación tiene el bloqueo de los receptores D1 y D2. Estos receptores han sido relacionados con procesos atencionales, y en este sentido su implicación en la

recuperación debería ser limitada, dado que el procesamiento asociativo del estímulo se ha realizado en una fase previa (Weiner, 2003). Con el objetivo de determinar su efecto en los procesos de recuperación estos compuestos se aplicará durante la fase de prueba.

2. Una vez analizada la implicación de los receptores dopaminérgicos D1 y D2 en los procesos de recuperación en un procedimiento de IL, se analizará su implicación en uno de los procesos moduladores de la IL como es la especificidad contextual (Hall y Honey, 1989; Hall y Minor, 1984; Quintero y otros 2011a, b; Westbrook y otros, 2000). Las manipulaciones experimentales en el Sub-v modulan la liberación de dopamina en el ATV sobre el Nac (Floresco y otros, 2001). Esta liberación se ve facilitada por las proyecciones glutamatérgicas desde el ATV y los receptores dopaminérgicos postsinápticos que incrementan la actividad del Nac. Con el objetivo de analizar si esta actividad es dependiente del contexto, se analizó el bloqueo de los receptores dopaminérgicos D1 y D2 bajo un procedimiento que evaluaba la especificidad contextual de la IL.
3. Los receptores de dopamina D2 han sido relacionados directamente con los procesos atencionales. Las proyecciones

prefrontales sobre el Nac utilizan este tipo de receptor en forma de modulador presináptico. Estos datos han sido descritos por estudios electrofisiológicos (Floresco y otros, 2001), donde el incremento de la actividad dopaminérgica reduce la actividad del córtex prefrontal sobre el Nac. Con el objetivo de analizar si el receptor D2 está implicado en los procesos atencionales, se evaluó el bloqueo de este receptor durante la fase de preexposición. Es durante esta donde los procesos atencionales adquieren una mayor relevancia.

4. El último experimento se realizó con el objetivo de analizar el fenómeno de la superinhibición latente cuando se utiliza un contexto experimental durante la pre-exposición y condicionamiento, y durante la fase de test se utiliza el contexto hogar. Quintero y otros (2011a) describieron este fenómeno observando un incremento significativo de la IL cuando el contexto hogar sirve de contexto de recuperación. Este fenómeno es de gran interés dado que es uno de los más característicos a la hora de evaluar la recuperación de las asociaciones entre estímulos. En este sentido, indicar que tanto los procesos atencionales como el procesamiento contextual, relacionados por los receptores dopaminérgicos D2 y D1 respectivamente, podrían presentar una actividad específica en el proceso modulador de la superinhibición

latente. Este último experimento evaluó esta actividad administrando durante las fases de pre-exposición y condicionamiento los agentes bloqueadores de los receptores dopaminérgicos D1 y D2.

En resumen, los objetivos del presente trabajo intentan diferenciar la implicación de los receptores dopaminérgicos D1 y D2 en las diferentes fases que describe un procedimiento de inhibición latente con un doble objetivo general: 1. analizar en qué medida la IL es un problema de adquisición o recuperación y 2. Como modula la dopamina la expresión, tanto por exceso (superinhibición latente) como por defecto (especificidad contextual), de la IL.

Por lo tanto nuestra hipótesis de partida será la siguiente:

1. Si los receptores dopaminérgicos D2 están implicados en los procesos atencionales deberíamos observar un incremento de la IL cuando el bloqueo de estos sea durante la fase de pre-exposición, pero no de recuperación.
2. El bloqueo de los receptores D2 debería ser independiente del contexto, y por tanto no debería afectar a la expresión de la IL cuando su administración fuera durante la fase de recuperación. De igual modo, la expresión de la IL debería ser independiente de contexto cuando la administración de antagonistas de D2 fuera durante la fase de adquisición.

Objetivos e hipótesis

3. El bloqueo del receptor D1 debería afectar exclusivamente a la expresión de la IL cuando se realizan cambios contextuales. Así, la administración durante la fase de recuperación y de adquisición deberían mostrar una IL normal, sin expresar superinhibición latente ni especificidad contextual.

Experimentos

Experimentos

La IL se define como un retraso en el aprendizaje de condicionamiento debido a la previa exposición del estímulo en ausencia de consecuencias (Lubow y More, 1959). Estudios farmacológicos han mostrado la dependencia dopaminérgica de dicho fenómeno. Así, se ha observado que el incremento en la transmisión dopaminérgica producido por inyecciones sistémicas de amfetamina interrumpe la IL. Asimismo, el decremento en la transmisión de dopamina producido por haloperidol u otros antipsicóticos facilita la IL e invierte los efectos de las amfetamina. Estos resultados han determinado que el análisis de este fenómeno, aparentemente simple, haya sido el foco de un creciente interés debido a su potencial para ser utilizado como un modelo animal de esquizofrenia (Solomon y otros, 1981; Weiner y otros, 1981, 1984, 1988). Y en este sentido, la comprensión de los mecanismos psicológicos y fisiológicos subyacentes a la IL adquiere una gran relevancia.

En la actualidad existen dos tipos de propuestas teóricas con relación a los procesos cognitivos implicados en este fenómeno. Las teorías tradicionales del aprendizaje han planteado que la IL se basa en un fallo de adquisición del aprendizaje de condicionamiento. Independientemente de los

Experimentos

mecanismos propuestos, estas modelos plantean que el aprendizaje que se establece durante la fase de preexposición reduce la asociabilidad del futuro EC, interfiriendo con el desarrollo del aprendizaje de la asociación EC-EI durante la fase de condicionamiento (eg. Lubow, 1989; Lubow y otros, 1981; Mackintosh, 1975; Pearce y Hall, 1980; Schmajuk y DiCarlo, 1991; Wagner, 1978, 1981). Sin embargo, teorías actuales consideran que la IL refleja un fallo de recuperación del aprendizaje de condicionamiento (Bouton, 1993; Miller y Matzel, 1988; Escobar y otros, 2002a; Weiner, 2003). Este fenómeno consistiría en un proceso de competencia (por su expresión) entre los dos aprendizajes conflictivos que se establecen con relación al EC durante las fases de preexposición (EC-no EI) y la de condicionamiento (EC-EI).

Numerosos datos conductuales y fisiológicos avalan esta concepción. Estudios con microdialisis han mostrado que tras la preexposición del EC, los niveles de dopamina condicionada en el Nac se ven disminuidos durante el condicionamiento y durante la prueba, pero no son afectados durante la fase de preexposición (Young y otros, 1993). En un análisis más pormenorizado de la actividad dopaminérgica de esta estructura, Jeanblanc y otros (2002) mostraron que la parte dorsomedial del *shell* y el *core* estaban implicados en los procesos relacionados con la IL, mientras que la parte ventromedial del *shell* se relacionó con los procesos de percepción afectiva de los estímulos. Con relación a esta última estructura obtuvieron patrones de respuesta dopaminérgica similares en los grupos de preexposición y no preexposición, lo que les permitió plantear que en ambos grupos se estableció el

aprendizaje de condicionamiento (procesamiento aversivo del estímulo), aunque su expresión se encontraba inhibida en el grupo de preexposición.

Los trabajos que han analizado el papel del contexto en la IL también apoyan la concepción de este fenómeno como un fallo de recuperación debido a una interferencia proactiva. Específicamente se ha demostrado que la introducción de un cambio contextual entre la fase de preexposición y las fases de condicionamiento y prueba favorece la recuperación del aprendizaje de condicionamiento (atenuación de la IL) (Bouton y Brooks, 1993; Lovibond y otros, 1984). Sin embargo, esta atenuación de la IL no se observa cuando los contextos de preexposición y de prueba son similares y difieren del contexto de condicionamiento. Asimismo, estudios conductuales y electrofisiológicos han mostrado que una vez establecida la IL, la extinción del contexto reduce la IL tanto a nivel conductual (Escobar y otros, 2002b) como a nivel neural (Talk y otros, 2005). A partir de estos resultados se ha planteado que el aprendizaje de preexposición es especialmente dependiente de contexto y por ello el cambio del contexto de la preexposición al condicionamiento es particularmente efectivo para permitir la expresión del aprendizaje de condicionamiento, el cual se plantea como más independiente de contexto.

Estudios farmacológicos muestran que los efectos de los agonistas y antagonistas dopaminérgicos sólo son efectivos si actúan durante el condicionamiento o durante la preexposición y el condicionamiento. Sin embargo su aplicación durante la fase de preexposición no parece tener

Experimentos

efecto en la IL (Bethus y otros, 2006; Weiner y otros, 1984). Aunque estos resultados experimentales han sido interpretados como apoyo a la concepción de la IL como un fallo en la expresión del aprendizaje de condicionamiento, el hecho de que la aplicación de los fármacos se haya establecido durante las fases de preexposición y de condicionamiento necesariamente confunde el posible rol del sistema dopaminérgico en los procesos de recuperación con su posible rol en los procesos de codificación.

Con el objetivo de determinar si el sistema dopaminérgico está implicado en la expresión de la IL más que en los procesos de adquisición nos planteamos analizar el efecto de la aplicación sistémica de antagonistas dopaminérgicos, tanto durante la fase de preexposición y condicionamiento (Experimentos 1 y 2), como durante la fase de prueba (Experimentos 3 y 4). Aunque existen numerosas investigaciones que han demostrado la dependencia dopaminérgica de la IL, hasta donde nosotros conocemos, no existen estudios que analicen el efecto de fármacos dopaminérgicos durante la fase de prueba. Este hecho es importante porque desde las teorías del fallo de la recuperación se plantea que es en esta fase donde se produce la competición entre los aprendizajes establecidos durante la preexposición y el condicionamiento. Asimismo, y dado el papel central que desde estas teorías se otorga a la actuación de los procesos de recuperación contextual, en los Experimentos 2 y 4 analizaremos si dichos fármacos afectan a la modulación contextual de la IL aplicándolos durante las fases de preexposición y

Experimentos

condicionamiento (Experimento 2) o exclusivamente durante la fase de prueba (Experimento 4).

Experimentos

Experimento 1

Introducción

La mayoría de los experimentos que han analizado el efecto de los fármacos agonistas y antagonistas de dopamina en la IL han mostrado que en dicho fenómeno están especialmente implicados los receptores dopaminérgicos del tipo D2. De hecho se ha mostrado que la estimulación de dichos receptores atenúa la IL, y que tanto los antipsicóticos típicos como los atípicos que bloquean los receptores D2 neutralizan el efecto de los fármacos agonistas, facilitando la expresión de dicho fenómeno en condiciones que generan una IL débil (Dunn y otros, 1993; Gosselin y otros, 1996; Warburton y otros, 1994; Weiner y otros, 1996). Por el contrario, y con relación a los receptores D1, aunque existen experimentos que muestran que los antagonistas de D1 pueden invertir los efectos de atenuación de la IL provocada por la estimulación de los receptores D2 (Nelson y otros, 2012), en la mayoría de los estudios no se observa una implicación directa de estos receptores en la IL (Ellenbroek y otros, 1996; Stevenson y Graton, 2002; Trimble y otros, 2002). Más bien, el papel de estos receptores en la IL parece estar más relacionado con efectos moduladores.

Estudios recientes han mostrado la implicación del subiculum ventral en el procesamiento contextual que modula la expresión de la IL (Quintero y otros, 2011b). Específicamente se ha planteado que el subiculum ventral puede actuar como interface entre las áreas ventrales CA1 y CA3 del hipocampo implicadas en los procesos de codificación y recuperación de

Experimentos

información contextual y la modulación dopaminérgica de áreas subcorticales como el Nac y la Vta (Floresco y otros, 2001). La implicación central de los receptores D1 en la plasticidad sináptica de estas áreas hipocampales (Ortiz y otros, 2010) apuntan a un efecto modulador de los mismos a través de la información contextual en la IL.

En el presente experimento analizamos el efecto en la IL de dos antagonistas dopaminérgicos directos, Sulpiride (antagonistas de receptores D2) y SCH-23390 (antagonistas de los receptores D1). Dichos fármacos fueron aplicados durante las fases de preexposición y de condicionamiento. La mayoría de los estudios que han utilizado antagonistas dopaminérgicos han aplicado los fármacos a procedimientos que generaban una débil IL (Dunn y otros, 1993; Feldon y Weiner, 1991; Trimble y otros, 2002) o lo han usado para tratar de invertir el efecto de agonistas dopaminérgicos (De la Casa y otros, 1999; Weiner y otros, 1990). Dado que el objetivo general del estudio se centra tanto en el análisis los efectos directos de los antagonistas D1 y D2 sobre la IL, así como sobre la especificidad contextual de la misma, en el presente experimento aplicaremos dichos fármacos a un procedimiento que ha mostrado ser efectivo para producir un efecto robusto de IL. De esta manera podremos comparar los efectos de los fármacos sobre la IL con y sin cambio de contexto.

Métodos

Sujetos. En el presente experimento participaron un total de 47 ratas macho Wistar, totalmente ingenuas al comienzo del experimento. El rango de peso de los sujetos experimentales estuvo entre 295g y 342g. Durante el experimento las ratas fueron alojadas individualmente en cajas de plexiglás cubiertas en la base con serrín. El tamaño de las cajas fue de 40 x 20 x 24 cm. Los animales fueron mantenidos en un ciclo regular 12:12 horas de luz-oscuridad. Las sesiones experimentales se llevaron a cabo durante el periodo de luz. La comida estuvo disponible ad libitum durante todo el experimento y el agua fue restringida a un periodo de 25 minutos por día. Uno de los animales fue eliminado del experimento debido a problemas con una de las botellas experimentales durante la sesión de prueba. El animalario estuvo iluminado por bombillas de 100W. Los animales en este y en los siguientes experimentos fueron mantenidos y usados para experimentación siguiendo la normativa establecida por la Directiva 86/609/CEE del Consejo de la Comunidad Europea y el real decreto 223/1988 de la normativa española.

Aparatos. Todas las sesiones experimentales fueron realizadas en las jaulas hogar de los animales (ver apartado de *Sujetos*). Las soluciones fueron proporcionadas a temperatura ambiente en botellas de plástico graduadas de 150 ml. La boquilla de la botella era de acero inoxidable. Las botellas fueron colocadas en la parte frontal de las rejillas de las cajas

Experimentos

durante la presentación de líquidos. La cantidad de líquido consumido por cada rata fue medido mediante el diferencial del peso de la botella antes y después de la presentación de las soluciones de agua o de sabor. Las soluciones fueron agua o sacarina sódica disuelta en agua al 0.04%. El estímulo incondicionado consistió en una inyección intraperitoneal de cloruro de litio (0.4-M) al 5% del peso corporal. El fármaco antagonista de los receptores D1 fue una solución de SCH-23390 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) disuelto en solución salina y administrada al 0.02% mg/kg. El fármaco antagonista de los receptores D2 fue una solución de sulpiride (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) disuelta en solución salina. La administración fue de 100mg/kg. Los sujetos control se utilizaron inyecciones de salino (0.1 ml.). Todas las drogas fueron inyectadas intraperitonealmente veinte minutos antes de la presentación de las botellas con las soluciones correspondientes.

Procedimiento. Veinticuatro horas antes del comienzo del experimento se retiraron las botellas de agua de las jaulas hogar de los animales. Durante la fase de preexposición cada rata recibió cuatro sesiones (de 5 minutos cada una) de acceso a la solución correspondiente. Esto es: sacarina el grupo preexposición (Pe), o agua el grupo de no preexposición (Npe) en sus jaulas hogares en días consecutivos (ver tabla 1).

El día 5 (fase de condicionamiento), todas las ratas recibieron 5 minutos de acceso a la solución de sacarina seguida de una inyección intraperitoneal de LiCl.

Experimentos

Previo al desarrollo del experimento, las ratas de cada grupo (Pe y Npe) fueron asignadas a una de las tres condiciones de droga: Sal, Sulp o SCH-23390. Los grupos (n=8, salvo el grupo Npe-Sal=7) fueron igualados en función del peso. Durante la fase de preexposición y condicionamiento los animales recibieron sesiones de 5 min cada una de acceso a la sacarina en días consecutivos. La administración del salino (Sal) o del compuesto de sulpiride (Sulp) o SCH-23390 (SCH), correspondientes a cada grupo, fue inyecta 20 minutos antes del comienzo de cada sesión de preexposición o condicionamiento (ver tabla 1).

Diseño experimental.

		Pre 1	2	3	4	EC-EI	Test 1	Test 2	Test 3
Npe	Sal	A	A	A	A	S-LiCl	S	S	S
	Sulp								
	SCH								
Pe	Sal	S	S	S	S		S	S	S
	Sulp								
	SCH								

Tabla 1. Diseño experimental. Npe: grupo de no preexposición. Pe: grupo de preexposición. A: Agua. S: Compuesto de sacarina sódica al 0.04%. EC-EI: fase de condicionamiento. Sal: solución salina. Sulp. Sulpiride. SCH: SCH-23390

Resultados y discusión

Los consumos medios en los ensayos de la fase de preexposición en función del sabor y de la droga se muestran en la figura 1. Los datos fueron analizado con un ANOVA mixto 4 (*ensayos*) x 2 (*sabor*: sacarina vs agua) x 3 (*droga*: Sal, Sulp, SCH) con medidas repetidas para la primera variable. El análisis mostró un efecto significativo de la variable Ensayos, $F(3, 123)=31.17$, $p< 0.001$, debido a un incremento generalizado del consumo a lo largo de los ensayos de preexposición. Los efectos principales de las variables *sabor* y *droga* no fueron significativos ($ps> 0.05$). Las interacciones *sabor* x *droga*, *ensayos* x *droga* y *ensayos* x *sabor* x *droga* no fueron significativas (todas las $ps> 0.05$). Hubo un efecto significativo de la interacción *ensayos* x *sabor*, $F(3, 123)= 9.82$, $p< 0.001$ debido a la habituación a la neofobia de la sacarina. El análisis de los efectos simples mostró que el consumo de sacarina fue menor que el de agua en el primer ensayo de preexposición ($p< 0.01$) y que este patrón se invirtió en los ensayos 3 y 4 en los que el consumo de sacarina fue mayor que el de agua ($ps< 0.01$).

En la figura 2 se muestra el consumo medio de sacarina el día del condicionamiento en función de la preexposición y de la droga. El análisis de los datos realizados con un ANOVA 2 (*preexposición*) x 3 (*droga*) mostró un efecto significativo de la variable *droga*, $F(2, 41)= 4.69$, $p< 0.05$ debido a que los animales de la condición Sul consumieron más sacarina que los de la condición Sal ($p< 0.05$) y los de la condición SCH ($p< 0.05$). También hubo un efecto significativo de la variable *preexposición*, $F(1, 41)= 11.37$, $p< 0.001$

Experimentos

debido que los grupos preexuestos consumieron más sacarina que los no preexuestos (media Pe=9.56, sd=2.04 y media Npe= 8, sd=1.22).

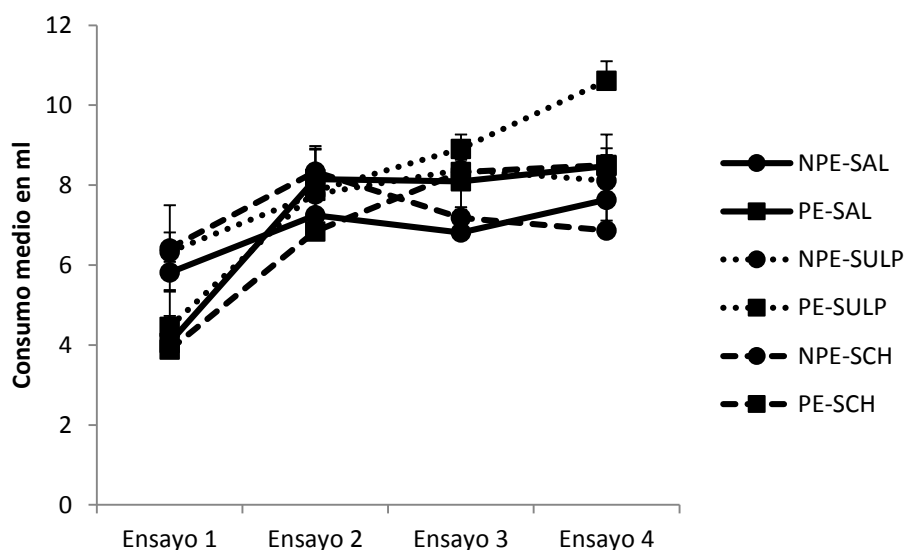


Figura 1. Consumo medio de sacarina sódica (grupo de Pe) o agua (grupo de Npe) durante la fase de preexposición. La gráfica muestra los cuatro ensayos en días consecutivos previos al condicionamiento. Npe.: grupo de no preexposición a sacarina. Pe: grupo de preexposición a sacarina. Sal: grupo de inyección salina. Sulp: grupo de inyección de sulpiride. SCH: grupo de inyección SCH-23390.

Dado que el consumo del día del condicionamiento es una variable que afecta directamente al tamaño del efecto de la IL para el análisis de los consumos de los días de prueba, decidimos realizar una transformación de los datos en razones de supresión. Dicha transformación se realizó dividiendo el consumo del día de prueba correspondiente entre el sumatorio del consumo del día de condicionamiento y el consumo de la prueba. Esta transformación nos permite controlar las diferencias debidas al consumo del día del condicionamiento.

Experimentos

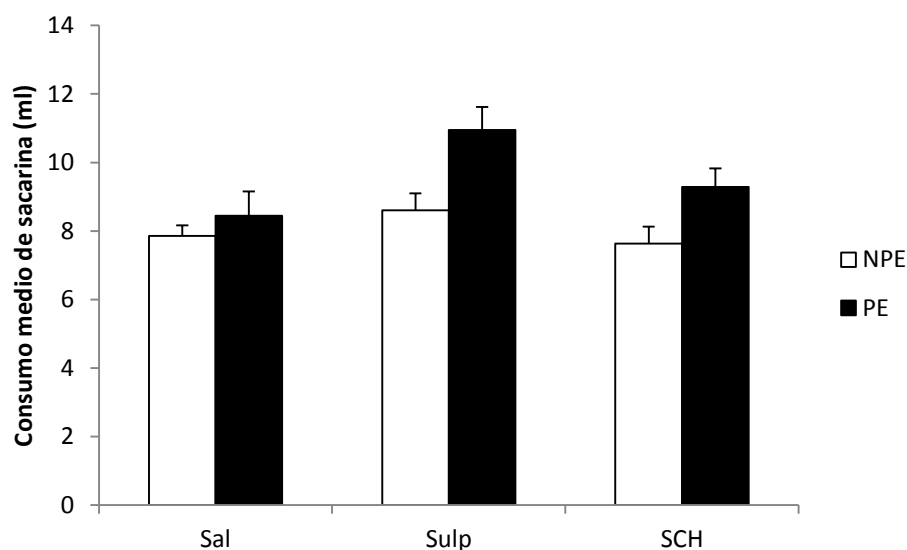
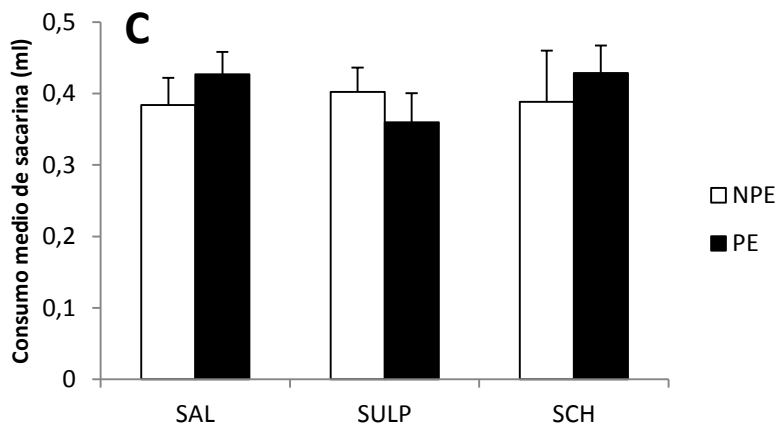
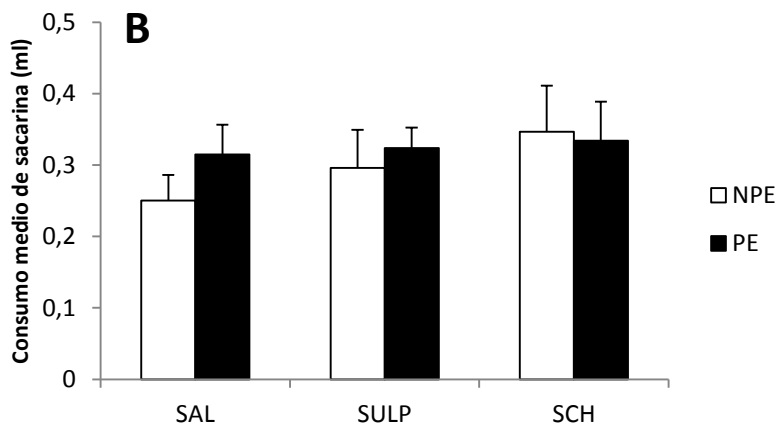
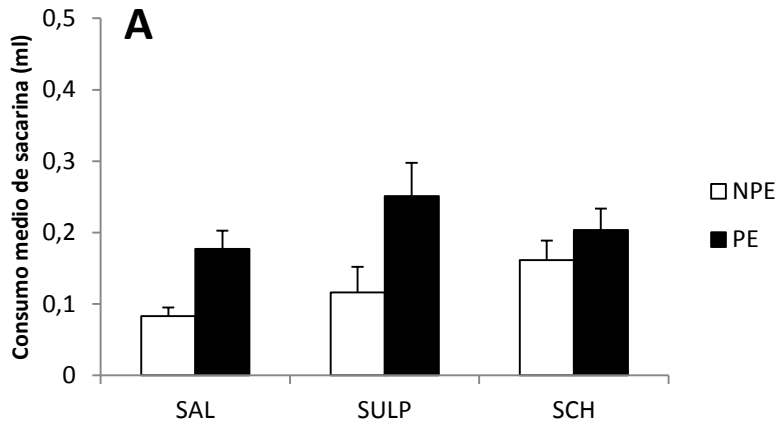


Figura 2. Consumo medio de sacarina sódica durante la fase de condicionamiento. Npe.: grupo de no preexposición a sacarina. Pe: grupo de preexposición a sacarina. Sal: grupo de inyección salina. Sulp: grupo de inyección de sulpiride. SCH: grupo de inyección SCH-23390.

En la figura 3 se muestran las razones de supresión media durante los ensayos de prueba 1 (A), 2 (B) y 3 (C) en función de la preexposición y de la droga. Como puede observarse durante el primer ensayo de prueba hubo un efecto de IL para todas las condiciones de droga, siendo el efecto mayor para los grupos SUL y el menor para los grupos SCH. El efecto de IL no aparece, sin embargo, en los ensayos 2 y 3.

Experimentos



Experimentos

El análisis estadístico realizado con un ANOVA mixto 2 (*preexposición*) x 3 (*droga*) x 3 (*prueba*) con medidas repetidas para la última variable sólo mostró un efecto significativo de la variable *prueba*, $F(2, 82) = 114.38$, $p < 0.001$, debido al incremento significativo del consumo de sacarina (*extinción*) a lo largo de los ensayos (todas las $ps < 0.05$) y de la interacción *preexposición x prueba*, $F(2, 82) = 3.50$, $p < 0.05$. El análisis de los efectos simples con la prueba T-Student mostró que la *preexposición* sólo fue significativa en el primer ensayo de prueba, $t(1, 45) = 3.94$, $p < 0.05$. No hubo efecto de IL en los ensayos 2 y 3 de prueba ($ps > 0.05$). Ningún otro efecto fue significativo (todas las $ps > 0.05$).

En general los resultados muestran que en ausencia de cambio de contexto, los antagonistas D1 y D2 no parecen modular el efecto de IL cuando se inyectan durante las fases de *preexposición* y *condicionamiento*.

Figura 3. Consumo medio de sacarina sódica durante la fase de prueba. A. Primer día de prueba. B y C segundo y tercer día de prueba respectivamente. Npe.: grupo de no *preexposición* a sacarina. Pe: grupo de *preexposición* a sacarina. Sal: grupo de inyección salina. Sulp: grupo de inyección de *sulpiride*. SCH: grupo de inyección SCH-23390.

Experimentos

Los resultados con relación al SCH son coherentes con los obtenidos en estudios previos en las que se muestra una ausencia de efecto de dicho fármaco sobre la IL (Ellenbrook y otros, 1996, Stevenson y Graton, 2004, Trimble y otros, 2002). La ausencia de efecto es consistente con lo planteado en la introducción dado que este tipo de receptores parecen tener una función moduladora que no afecta directamente a la IL, sino sobre su dependencia contextual. Por ello y debido a que en este experimento no existió cambio de contexto de unas fases a otra este resultado es totalmente esperado.

Con relación a los antagonistas D2 (sulpiride) la ausencia de efecto sobre la IL podría estar determinada por el procedimiento utilizado. Como hemos comentado anteriormente, los estudios que han analizado el efecto de este tipo de antagonista han utilizado procedimientos que no generan IL o generan un efecto débil de IL (pocos ensayos de preexposición o muchos ensayos de condicionamiento). Estos procedimientos podrían ser más sensibles a los efectos de reducción selectiva de la neurotransmisión dopaminérgica que el utilizado en este experimento que producía un efecto robusto de IL. Así podríamos plantear que la facilitación del efecto de IL podría estar enmascarado por un efecto techo. Estudios electrofisiológicos han mostrado que la liberación condicionada de dopamina que normalmente ocurre durante el condicionamiento y la prueba no se produce si el estímulo ha sido preexposto (Young y otros, 2005). El bloqueo de la transmisión dopaminérgica durante la fase de condicionamiento incide en la misma

Experimentos

dirección que la preexposición. Por ello el efecto de los agonistas D2 pueden ser más fácilmente observados cuando el procedimiento IL utilizado produce un efecto débil o una ausencia de IL, dado que favorecen el aprendizaje de condicionamiento y por tanto la liberación condicionada de dopamina.

Experimento 2

Introducción

En nuestro segundo experimento analizaremos los efectos de los antagonistas dopaminérgicos de los receptores D1 y D2 sobre la especificidad contextual de la IL. En estudios previos se ha mostrado que dicho fenómeno es dependiente de la familiaridad del contexto y de las fases en las que dicho cambio se produce. Cuando los contextos son novedosos, el cambio del contexto de la fase preexposición a las fases de condicionamiento y prueba (eg. ABB) produce una atenuación de la IL. Sin embargo cuando dicho cambio se establece entre las fases de preexposición y condicionamiento y la fase de prueba (eg. AAB) la mayoría de los estudios arrojan resultados nulos (IL). Con relación a esta última manipulación contextual, si el contexto de prueba es un contexto familiar como la jaula hogar de los animales (AAH), el cambio de contexto produce un incremento de la IL. El efecto de los fármacos antagonistas dopaminérgicos sobre este fenómeno de "super IL" es el objetivo del presente experimento. La utilización de esta manipulación contextual se basa en el efecto que los antagonistas D1 tienen sobre la fase de preexposición. En trabajos previos se ha mostrado que el procesamiento del sabor como la sacarina durante un procedimiento de habituación a la neofobia, se encuentra limitado (resistencia a la habituación) cuando se preexpone en ausencia de consecuencias en un contexto novedoso. Sin embargo, dicho procesamiento no se ve afectado

cuando se utiliza como contexto la jaula hogar. En este sentido podríamos plantear que el aprendizaje de preexposición podría verse atenuado en la condición SCH. Por tanto, en ausencia de cambio de contexto podríamos observar una atenuación de la IL. Sin embargo, si la prueba se lleva a cabo en un contexto familiar como la jaula hogar que tiene propiedades de seguridad, los efectos del fármaco deberían ser invertidos, aunque no a los niveles del grupo control.

Por su parte, los efectos de los antagonistas de los receptores D2 deberían favorecer el aprendizaje de preexposición y sus efectos se sumarían a los del contexto de seguridad. Por ello, en este grupo esperaríamos un efecto de IL mayor que en el del grupo control o al menos similar si, como en el experimento anterior, obtenemos un efecto techo.

Métodos

Sujetos. En este estudio participaron 48 ratas Wistar macho proporcionadas por el animalario de la Universidad de Sevilla. El peso de los animales estuvo entre 292g y 354g. Las ratas fueron alojadas y mantenidas en condiciones similares a las del Experimento 1.

Aparatos. La fase de preexposición y condicionamiento fue realizada en un contexto diferente al de preexposición (contexto A). Este contexto consistió en cajas de plexiglás de 40 × 20 × 19 cm, con el suelo cubierto de cartón. Las cajas estaban localizadas en una habitación diferente del

Experimentos

animalario iluminada por una luz roja de 75W. El resto de los aparatos fueron idénticos a los usados en el Experimento 1. La fase de prueba se realizó en las cajas hogar de los animales.

Procedimiento. Como en el Experimento 1, durante las cuatro sesiones de la fase de preexposición, el grupo Npe recibió 5 minutos de acceso al agua en sus cajas hogares mientras que los grupos de Pe recibieron acceso a una solución de sacarina. El ensayo de condicionamiento (día 5), al igual que la preexposición, se desarrolló en el contexto A (ver tabla 2). Los ensayos comenzaron con un periodo de adaptación de 10 minutos al nuevo contexto. Posteriormente, durante el condicionamiento, todos los animales tuvieron 5 min de acceso a la solución de sacarina seguida inmediatamente de una inyección IP de LiCl. Los animales permanecieron en este contexto durante 5 minutos antes de ser trasladado a sus cajas hogar.

Antes del comienzo del experimento, los animales fueron asignados a los diferentes grupos (n=8) siguiendo el mismo criterio usado en el Experimento 1 (Npe-Sal, Pe-Sal, Npe-Sulp, Pe-Sulp, Npe-SCH, Pe-SCH). Veinte minutos antes del comienzo de cada sesión cada rata fue inyectada intraperitonealmente con la correspondiente droga, permaneciendo durante este periodo en su caja hogar. Las tres sesiones de la fase de prueba se desarrollaron en el contexto hogar. Como en la fase de condicionamiento, tras 10 min, los animales tuvieron acceso a la solución de sacarina durante 5 min.

Diseño experimental.

		Contexto A					Cajas hogar		
		Pre 1	2	3	4	EC-EI	Test 1	Test 2	Test 3
Npe	Sal	A	A	A	A	S-LiCl	S	S	S
	Sulp								
	SCH								
Pe	Sal	S	S	S	S		S	S	S
	Sulp								
	SCH								

Tabla 2. Diseño experimental. Npe: grupo de no preexposición. Pe: grupo de preexposición. A: Agua. S: Compuesto de sacarina sódica al 0.04%. EC-EI: fase de condicionamiento. Sal: solución salina. Sulp. Sulpiride. SCH: SCH-23390.

Resultados y discusión

En la figura 4 se muestra el consumo medio de fluido de los animales durante la fase de preexposición en función del sabor preexpuesto y del fármaco inyectado. Un ANOVA 2 (*sabor*) x 3 (*droga*) x 4 (*ensayos*) realizado sobre el consumo de los animales, con medidas repetidas para la última variable, reveló un efecto significativo de la variable *droga*, $F(2, 43)= 17.427$, $p < 0.001$ debido a un menor consumo de fluido de la condición SCH. Ni el efecto principal de la variable *sabor* ni el de la interacción *droga x sabor* y el de la interacción *sabor x ensayo* fueron significativos (todas las $ps > 0.05$) indicando que el efecto de la droga se produjo sobre el consumo independientemente del sabor consumido.

Experimentos

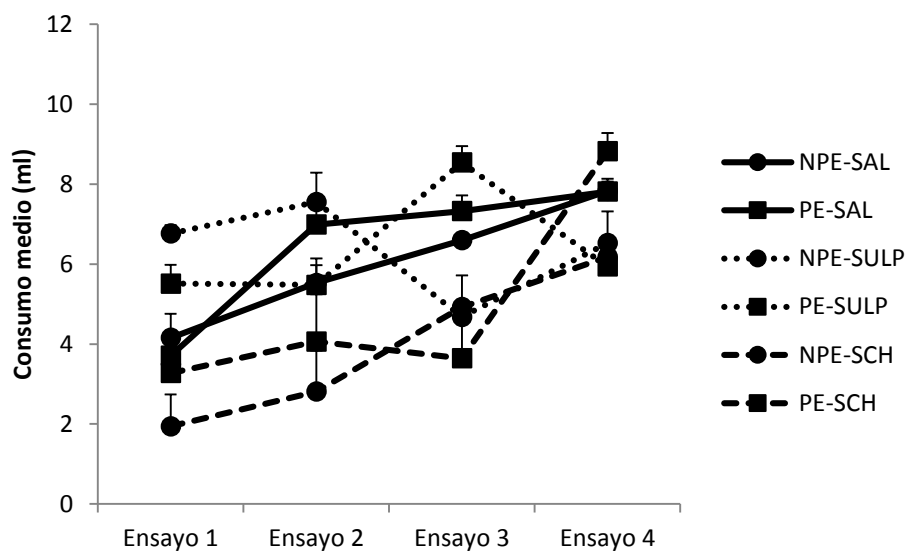


Figura 4. Consumo medio de sacarina sódica (Pe) o agua (Npe) durante la fase de preexposición en el Contexto A. La gráfica muestra los cuatro ensayos en días consecutivos previos al condicionamiento. Npe.: grupo de no preexposición a sacarina. Pe: grupo de preexposición a sacarina. Sal: grupo de inyección salina. Sulp: grupo de inyección de sulpiride. SCH: grupo de inyección SCH-23390.

El efecto principal de la variable ensayos fue significativo, $F(3, 129)=27.031$, $p < 0.001$, debido a un incremento generalizado del consumo a lo largo de los ensayos de preexposición. El efecto de la interacción *droga x ensayo* fue significativo, $F(6, 129)=8.522$, $p < 0.001$. La triple interacción *sabor x droga x ensayo* también fue significativa, $F(6, 129)=7.05$, $p < 0.001$. El análisis de los efectos simples mostró que esta interacción fue debida a que en los grupos Sal el consumo de agua y sacarina fue similar en los 4 ensayos de preexposición (todas las $ps > 0.05$), sin embargo en los grupos SCH el consumo de sacarina fue mayor que el de agua el último ensayo de preexposición, $F(1, 14)=14.59$, $p < 0.001$. Y en los grupos de Sulp el

Experimentos

consumo de agua fue mayor que el de sacarina en los ensayos 1, $F(1, 14)= 5.91$, $p < 0.05$ y 2, $F(1, 14)= 5.47$, $p > 0.05$. Sin embargo en el ensayo 3, la relación de consumo se invirtió, siendo mayor el consumo de sacarina que el de agua, $F(1, 14)= 44.94$, $p < 0.001$. En el ensayo 4, el consumo del grupo de agua y el de sacarina se igualó ($p > 0.05$). La comparación de los grupos de Npe mostró un efecto significativo de la droga en el primer ensayo de preexposición, $F(2, 21)= 16.67$, $p < 0.001$. El análisis a posteriori con la prueba de Tuckey mostró que el consumo de agua del grupo Sulp fue mayor que el del grupo Sal ($p < 0.05$) y que el del grupo SCH ($p < 0.05$). El grupo Sal consumió significativamente más agua que el grupo SCH. En el ensayo 2, el efecto de la droga también fue significativo, $F(2, 21)= 8.623$, $p < 0.01$. El grupo Sul consumió más agua que los otros dos grupos ($ps < 0.05$) los cuales no difirieron entre sí. En el ensayo 3 también hubo un efecto significativo de la droga, $F(2, 21)= 3.991$, $p < 0.05$. El grupo Sal consumió significativamente más agua que el grupo Sulp ($p < 0.05$). Los grupos se igualaron en el consumo de agua en el último ensayo de preexposición ($p > 0.05$). En los grupo de Pe hubo un efecto significativo de la *droga* en todos los ensayos de preexposición (todas las $ps < 0.05$). El consumo de sacarina fue mayor en el grupo Sulp que en el grupo SCH ($p < 0.05$) durante el primer ensayo. En el ensayo 2 el grupo SCH consumió menos sacarina que el grupo Sal ($p < 0.05$). En el ensayo 3 el consumo del grupo SCH fue menor que el de los otros dos grupos ($ps < 0.05$). Sin embargo, en el cuarto ensayo el grupo Sal consumió significativamente menos sacarina que el resto de los grupos ($p < 0.05$).

Experimentos

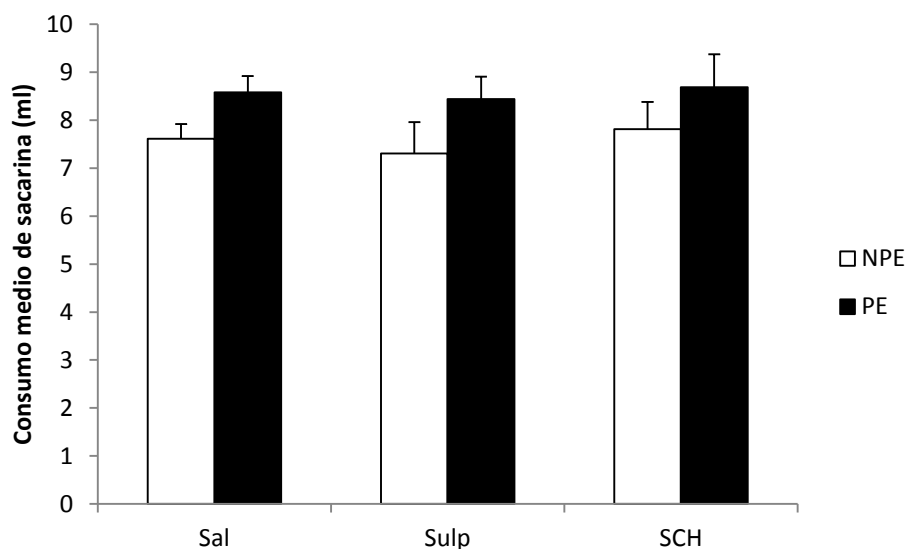


Figura 5. Consumo medio de sacarina sódica durante la fase de condicionamiento en el Contexto A. Npe.: grupo de no preexposición a sacarina. Pe: grupo de preexposición a sacarina. Sal: grupo de inyección salina. Sulp: grupo de inyección de sulpiride. SCH: grupo de inyección SCH-23390.

El consumo medio de sacarina durante el día del condicionamiento en función de la Preexposición y la Droga se muestra en la figura 5. El análisis de los datos se realizó con un ANOVA 2 (preexposición: Npe vs. Pe) x 3 (droga: Sal, Sulp, SCH). Sólo el efecto de la *preexposición* fue significativa, $F(1, 43) = 5.49$, $p > 0.05$, dado que los grupos Pe consumieron más sacarina que los grupos Npe, probablemente debido a un efecto de neofobia.

Al igual que en el experimento anterior transformamos los datos de consumo directo en razones de supresión con el objetivo de controlar el efecto del consumo del día de condicionamiento.

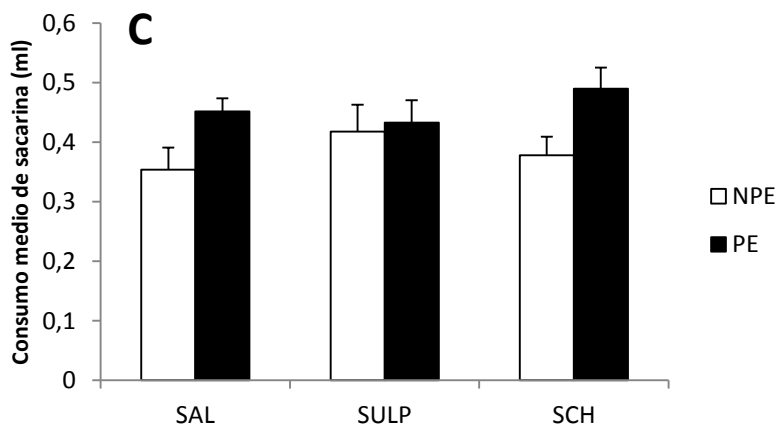
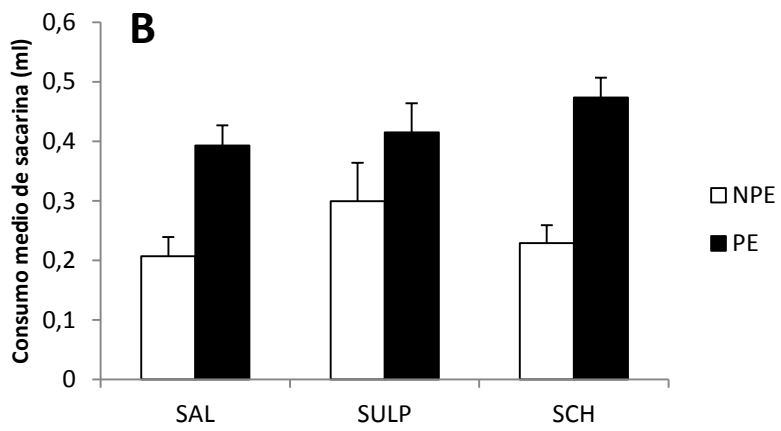
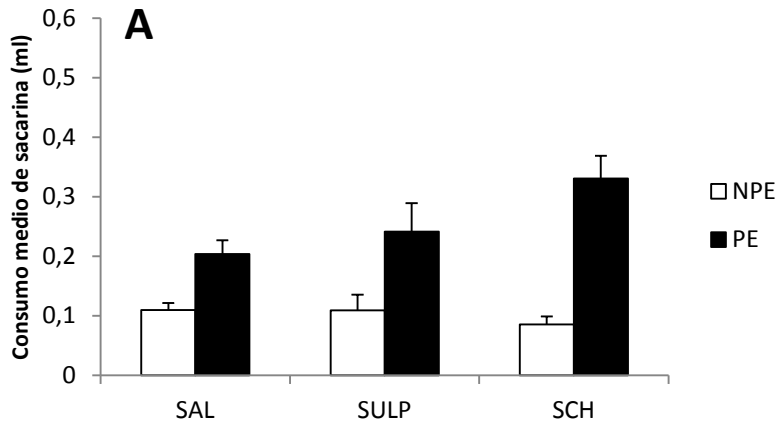
En la figura 6 aparecen representados los consumos medios de los animales en los tres días de prueba en función de la *preexposición* y de la

Experimentos

droga. Como puede observarse durante el primer día de prueba hubo un efecto de IL para todas las condiciones de drogas, aunque el efecto parece ser mayor en la condición SCH. La IL parece disminuir a lo largo de los ensayos de prueba. Sin embargo, los resultados de los análisis estadísticos no confirmaron estas impresiones. El ANOVA 3 (*prueba*) x 3 (*droga*) x 2 (*preexposición*) realizado sobre las razones de supresión no mostró ningún efecto significativo de la droga ni principal ni interactivo (todas las $ps > 0.05$). Hubo un efecto significativo de la variable *preexposición*, $F(1, 43) = 28.90$, $p < 0.001$, debido a un mayor consumo de sacarina de los grupos Pe que de los Npe (efecto de IL). El efecto de la variable *prueba* también fue significativo, $F(2, 86) = 193.97$, $p < 0.001$, debido a un incremento generalizado del consumo a lo largo de los ensayos. La interacción *preexposición* x *prueba* también fue significativa, $F(2, 86) = 10.27$, $p < 0.001$.

Figura 6. Consumo medio de sacarina sódica durante la fase de prueba. A. Primer día de prueba. B y C segundo y tercer día de prueba respectivamente. Npe.: grupo de no preexposición a sacarina. Pe: grupo de preexposición a sacarina. Sal: grupo de inyección salina. Sulp: grupo de inyección de sulpiride. SCH: grupo de inyección SCH-23390.

Experimentos



Experimento 3

Introducción

La ausencia de resultados significativos en los experimentos anteriores no condujeron a replantearnos el procedimiento seleccionado para analizar el efecto de las drogas agonistas dopaminérgicas sobre la modulación contextual de la IL. Por ello, en los dos siguientes experimentos utilizamos un diseño más tradicional para el análisis de dicho efecto. Como hemos planteado anteriormente los resultados más consistentes con relación a esta temática se han obtenido cuando se ha introducido un cambio de contexto de la fase de preexposición a las fases de prueba.

Además del cambio procedimental en el presente experimento aplicamos los fármacos exclusivamente durante la fase de prueba. Como comentamos en la introducción, existen numerosos trabajos han demostrado la dependencia dopaminérgica de la IL cuando las drogas se han inyectado en las fases de preexposición y condicionamiento, pero esta manipulación no nos permite identificar si los efectos de los fármacos actúan sobre los procesos de codificación o sobre los procesos de recuperación. Por ello, en el presente experimento analizamos el efecto en la IL de dos antagonistas dopaminérgicos directos, Sulpiride (antagonistas de receptores D2) y SCH-23390 (antagonistas de los receptores D1), aplicados durante la fase de prueba. Con el objetivo de determinar si, tal y como plantean las teorías del fallo de la recuperación, es en esta fase donde se produce la competición entre los aprendizajes establecidos durante la preexposición y el

condicionamiento

Métodos

Sujetos. En el experimento se utilizaron 48 ratas Wistar, macho (provenientes del animalario de la Universidad de Sevilla). El peso medio de los animales varió en un rango de 250 a 315 gr. Durante el experimento las ratas fueron alojadas individualmente en cajas de plexiglás cubiertas en la base con serrín. Las condiciones de estabulación fueron similares a la de los experimentos anteriores.

Aparatos. Al igual que en el Experimento 1 todas las sesiones experimentales fueron realizadas en las cajas hogar de los animales. Las cajas, las botellas experimentales, las soluciones utilizadas como EC y control, el EI fueron idénticos a los del Experimento 1. Los fármacos utilizados fueron los mismos del Experimento 1.

Procedimiento. Veinticuatro horas antes del comienzo del experimento se retiraron las botellas de agua de las jaulas hogar de los animales. Durante la fase de preexposición cada rata recibió cuatro sesiones (de 5 minutos cada una) de acceso a la solución correspondiente. Esto es: sacarina el grupo preexposición (Pe), o agua el grupo de no preexposición (Npe) en sus jaulas hogares en días consecutivos (ver tabla 3).

El día 5 (fase de condicionamiento), todas las ratas recibieron 5 minutos de acceso a la solución de sacarina seguida de una inyección

Experimentos

intraperitoneal de LiCl.

Tras el condicionamiento, las ratas de cada grupo (Pe y Npe) fueron asignadas a una de las tres condiciones de droga: salino (Sal), sulpiride (Sulp) o SCH-23390 (SCH). Los grupos (n=8, salvo el grupo Npe-SCH=7) fueron igualados en función del consumo y del peso. Durante la Fase de prueba, los animales recibieron tres sesiones (de 5 min. Cada una) de acceso a la sacarina en días consecutivos. Las drogas correspondientes a cada grupo fue inyecta 20 minutos antes del comienzo de cada sesión de prueba.

Diseño experimental

	Pre 1	2	3	4	EC-EI		Test 1	Test 2	Test 3
Npe	A	A	A	A	S-LiCl	Sal	S	S	S
						Sulp			
						SCH			
Pe	S	S	S	S		Sal	S	S	S
						Sulp			
						SCH			

Tabla 3. Diseño experimental. Npe: grupo de no preexposición. Pe: grupo de preexposición. A: Agua. S: Compuesto de sacarina sódica al 0.04%. EC-EI: fase de condicionamiento. Sal: solución salina. Sulp. Sulpiride. SCH: SCH-23390

Resultados y discusión

En la tabla 4 se muestra el consumo medio de líquido a lo largo de los ensayos de preexposición en función de la condición de preexposición. Los datos fueron analizados con un ANOVA mixto 4 (ensayos) x 2 (preexposición) que mostró un efecto principal de la variable ensayos, $F(3,135)=52.67$, $p<0.01$. El efecto principal de la variable *preexposición* no fue significativo $F(1,45)= 1.24$, $p> 0.27$. La interacción *ensayos x preexposición* fue significativa, $F(3,135)=11.67$, $p< 0.01$, reflejando probablemente un efecto de habituación a la neofobia del grupo Pe (ver tabla 4). Durante el día de condicionamiento, el consumo medio de sacarina fue similar en ambos grupos, $t(1,45)=1.74$, $p> 0.05$ (tabla 4).

	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Ensayo 4	EC-EI
Npe	8.01 (0.37)	8.76 (0.30)	9.20 (0.39)	9.75 (0.46)	9.77 (0.41)
Pe	5.74 (0.34)	9.06 (0.48)	8.86 (0.36)	9.88 (0.29)	10.61 (0.25)

Tabla 4. Consumo medio a lo largo de los ensayos de preexposición en función del sabor preexpuesto (Npe: agua vs. Pe: sacarina) y de la fase de condicionamiento (EC-EI). SEMs aparecen entre paréntesis.

La Figura 7 muestra el consumo medio de los grupos durante los ensayos de prueba en función de la preexposición y la droga. Para analizar el consumo durante los días de pruebas usamos un ANOVA mixto 3x2x3 (droga x preexposición x ensayos de prueba) con medidas repetidas para la última variable. El análisis mostró un efecto significativo de las variables

Experimentos

droga, $F(2, 41)=16.92$, $p < 0.01$, *preexposición* $F(1, 41)=22.48$, $p < 0.01$ y *ensayos de prueba* $F(2, 82)=67.26$, $p < 0.01$. También hubo un efecto significativo de la interacción *droga x ensayos de prueba*, $F(4,48)=5.09$, $p < 0.01$ y de la triple interacción *droga x preexposición x ensayos de prueba* $F(4,82)=13.02$, $p < 0.01$. Ninguna otra interacción fue significativa (todas las $ps > 0.05$).

El análisis de la triple interacción reveló que durante el primer ensayo de prueba hubo un efecto significativo de la interacción *droga x preexposición* $F(2, 41)=8.92$, $p < 0.01$. Para identificar la fuente de la interacción realizamos análisis de los efectos simples mediante la T-Student. Dicho análisis mostro la existencia de diferencias significativas entre los grupos Pe y Npe en la condición Sal, $t(1, 14)=3.55$, $p < 0.01$ y en la condición Sulp, $t(1, 14)=6.35$, $p < 0.01$. Sin embargo el efecto de IL fue abolido en la condición SCH, $t(1, 14)=1.69$, $p > 0.05$. El consumo de los grupos de Pe fue significativamente diferente, $F(2, 21)=11.20$, $p < 0.01$. Los animales del grupo Pe-Sulp consumieron más sacarina que los del grupo Pe-Sal ($p < 0.05$) y Pe-SCH ($p < 0.01$). El consumo de sacarina fue similar para estos dos grupos. Los grupos de Npe no difirieron entre si $F(2, 21)=3.28$, $p > 0.05$.

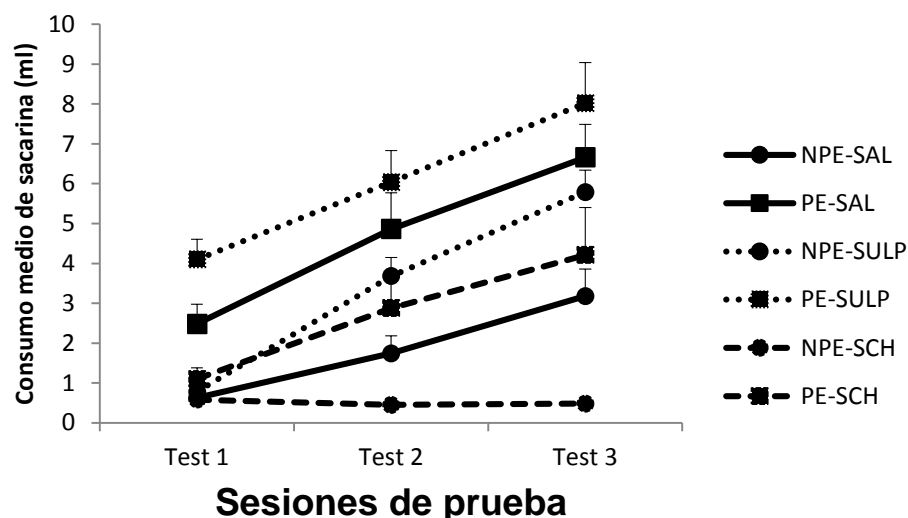


Figura 7. Consumo medio de sacarina sódica durante la fase de prueba. La gráfica muestra los tres ensayos de prueba de tres días consecutivos tras el condicionamiento. Npe.: grupo de no preexposición a sacarina. Pe: grupo de preexposición a sacarina. Sal: grupo de inyección salina. Sulp: grupo de inyección de sulpiride. SCH: grupo de inyección SCH-23390.

El efecto de IL se obtuvo para todas las condiciones de droga durante el segundo día de prueba. Hubo diferencias significativas entre los grupos Pe y Npe para la condición Sal, $t(1, 14)=3.06$, $p<0.01$; Sulp, $t(1, 14)=2.56$, $p<0.05$ y SCH, $t(1, 14)=2.42$, $p<0.05$. El grupo Pe-Sulp bebió más sacarina que el grupo Pe-SCH ($p<0.05$), y el consumo del grupo Pe-Sal fue similar al de los otros grupos de Pe (todas las $p>0.05$). Las comparaciones entre los grupos de Npe mostraron que el grupo Npe-Sulp consumió más sacarina que los grupos Npe-Sal ($p<0.01$) y Npe-SCH ($p<0.01$). No hubo diferencias significativas entre los grupos Npe-Sal y Npe-SCH ($p>0.05$).

La interacción *droga x preexposición* fue significativa durante el tercer día de prueba, $F(2, 41)=8.27$, $p>0.01$. El análisis de los efectos simples

Experimentos

mostraron diferencias significativas entre los grupos Npe y Pe, es decir efecto de IL, para la condición Sal, $t(1, 14)=3.22$, $p < 0.01$, y SCH, $t(1, 14)=2.88$, $p < 0.05$ pero no para la condición Sulp, $t(1, 14)=1.91$, $p=0.07$. No hubo diferencias significativas entre los grupos Pe, $F(2, 21)= 1.91$, $p > 0.05$. El consumo de sacarina fue diferente para los grupos Npe, $F(2, 20)=25.74$, $p < 0.01$. El grupo Npe-Sulp consumió más sacarina que los grupos Npe-Sal y Npe-SCH (todas las $ps < 0.01$). No hubo diferencias entre estos dos últimos grupos ($p= 0.052$).

Por ultimo las comparaciones intragrupos mostraron que el consumo de sacarina incrementó a lo largo de los ensayos de prueba en el grupo Pe-Sal, $F(2, 14)=35.92$, $p < 0.01$. Este incremento fue significativo para todos los ensayos de prueba (todas las $ps < 0.01$). El consumo del grupo Pe-Sulp también incrementó a lo largo de los ensayos de prueba, $F(2, 14)=5.03$, $p < 0.01$, pero no hubo diferencias significativas entre el segundo y el tercer ensayo ($p > 0.05$), probablemente debido a un efecto techo. El consumo de sacarina fue similar a lo largo de los ensayos de prueba para el grupo Pe-SCH (todas las $ps > 0.05$).

La extinción del aprendizaje aversivo gustativo fue significativa en el grupo Npe-Sal, $F(2, 14)=14.74$, $p < 0.01$. El consumo incrementó a lo largo de los ensayos (todas las $ps < 0.01$). El patrón de respuesta fue similar en el grupo Npe-Sulp, $F(2, 14)=52.31$, $p < 0.01$, con un aumento significativo del consumo a lo largo de los ensayos de prueba (todas las $ps < 0.01$). El grupo Npe-SCH mostró un patrón de respuesta opuesto, bebiendo menos sacarina

Experimentos

a lo largo de los ensayos de prueba, $F(2, 12) = 4.48$, $p < 0.05$. Este incremento fue significativo del ensayo 1 de prueba al ensayo 2 ($p < 0.05$). Ninguna otra comparación fue significativa.

En general los resultados muestran una afectación diferencial de los antagonistas D1 y D2 sobre la IL cuando se inyectan en la fase de prueba. Concretamente, los antagonistas D1 producen una atenuación de la IL aunque su efecto se limita al primer día de prueba. Los antagonistas D2 sin embargo producen una potenciación de la IL que también se limita al primer ensayo de prueba. Estos efectos son coherentes con los resultados obtenidos en los grupos de Npe en los que el bloqueo de los receptores D2 produjo una rápida extinción del aprendizaje de condicionamiento, mientras que se observó un efecto inverso (enlentecimiento de la extinción) cuando se utilizaron los antagonistas de los receptores D1.

Experimento 4

Como hemos planteado anteriormente, la especificidad contextual de la IL es un fenómeno ampliamente demostrado. A nivel conductual se ha observado que el cambio del contexto de la fase de preexposición a la fase de condicionamiento y prueba produce una atenuación o incluso abolición de la IL. Aunque a nivel fisiológico se ha mostrado que la atenuación de la IL tras el cambio de contexto no se produce en animales con lesión en el hipocampo y áreas relacionadas (Honey y Good, 1993, Quintero et al., 2011b), hasta donde nosotros conocemos no existen trabajos farmacológicos que hayan analizado el efecto de drogas dopaminérgicas sobre la especificidad contextual de la IL.

En nuestro segundo experimento analizaremos los efectos de los antagonistas dopaminérgicos de los receptores D1 y D2 sobre la especificidad contextual de la IL. Asimismo y con el objetivo de establecer la influencia de dichos fármacos sobre los procesos de recuperación los aplicaremos exclusivamente durante la fase de prueba, en la que, desde las teorías del fallo de recuperación, se establece la competición entre los aprendizajes desarrollados en las fases de preexposición y condicionamiento.

Métodos

Sujetos. En este estudio participaron 48 ratas Wistar macho proporcionadas por el animalario de la Universidad de Sevilla. El peso de los animales estuvo entre 290g y 340g. Las ratas fueron alojadas y mantenidas en condiciones similares a las del Experimento 1.

Aparatos. La fase de preexposición fue realizada en las cajas hogar de los animales. Las fases de condicionamiento y prueba fueron realizadas en un contexto diferente al de preexposición (contexto A). Este contexto fue el mismo que el utilizado en el experimento 2. El resto de los aparatos fueron idénticos a los usados en el Experimento 1, 2 y 3.

Procedimiento. Como en el Experimento 1 y 3, durante las cuatro sesiones de la fase de preexposición, el grupo Npe recibió 5 minutos de acceso al agua en sus cajas hogares mientras que los grupos de Pe recibieron acceso a una solución de sacarina. El ensayo de condicionamiento (día 5) se desarrolló en el contexto A (ver tabla 5). Este ensayo comenzó con un periodo de adaptación de 10 minutos al nuevo contexto. Posteriormente todos los animales tuvieron 5 min de acceso a la solución de sacarina seguida inmediatamente de una inyección ip de LiCl. Los animales permanecieron en este contexto durante 5 minutos antes de ser trasladado a sus cajas hogar. Antes del comienzo de la fase de prueba los animales fueron asignados a los diferentes grupos (n=8) siguiendo el mismo criterio

Experimentos

usado en el Experimento 3 (Npe-Sal, Pe-Sal, Npe-Sulp, Pe-Sulp, Npe-SCH, Pe-SCH). Veinte minutos antes del comienzo de cada sesión cada rata fue inyecta intraperitonealmente con la correspondiente droga, permaneciendo durante este periodo en su caja hogar. Las tres sesiones de la fase de prueba se desarrollaron en el contexto A. Como en la fase de condicionamiento, tras 10 min, los animales tuvieron acceso a la solución de sacarina durante 5 min y permanecieron en dicho contexto durante 5 min antes de ser trasladados a sus cajas hogar.

Diseño experimental.

	Cajas hogar				EC-EI	Contexto A			
	Pre 1	2	3	4			Test 1	Test 2	Test 3
Npe	A	A	A	A	S-LiCl	Sal	S	S	S
						Sulp			
						SCH			
Pe	S	S	S	S		Sal	S	S	S
						Sulp			
						SCH			

Tabla 5. Diseño experimental. Npe: grupo de no preexposición. Pe: grupo de preexposición. A: Agua. S: Compuesto de sacarina sódica al 0.04%. EC-EI: fase de condicionamiento. Sal: solución salina. Sulp. Sulpiride. SCH: SCH-23390.

Resultados y discusión.

En la tabla 6 se muestra el consume medio de fluido en los ensayos de preexposición en función de la condición de *preexposición*. Un ANOVA mixto 4 (*ensayos*) x 2 (*preexposición*) mostró un efecto principal significativo de los ensayos, $F(3,138)=54.39$, $p < 0.01$. El efecto de la preexposición no fue significativo, $F(1,46)=0.48$, $p > 0.50$. La interacción *ensayos x preexposición* fue significativa, $F(3,138)=7.05$, $p < 0.01$, reflejando probablemente un efecto general de habituación a la neofobia del grupo Pe.

	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Ensayo 4	EC-EI
Npe	7.49 (0.57)	9.19 (0.49)	9.59 (0.44)	9.36 (0.43)	8.74 (0.28)
Pe	5.96 (0.37)	8.49 (0.32)	9.61 (0.29)	10.2 (0.30)	9.25 (0.327)

Tabla 6. Consumo medio a lo largo de los ensayos de preexposición en función del sabor preexpuesto (Npe: agua vs. Pe: sacarina) y de la fase de condicionamiento (EC-EI). SEMs aparecen entre paréntesis.

El día del condicionamiento los grupos consumieron cantidades similares de sacarina, $t(1,46)=1.59$, $p > 0.05$. El consumo medio de sacarina para los grupos Npe y Pe aparece en la tabla 6.

La figura 8 muestra el consumo medio de los grupos en los ensayos de prueba en función de la *preexposición* y de la *droga*. Para analizar el consumo en los día de prueba realizamos un ANOVA mixto 3 x 2 x 3 (*droga x preexposición x ensayos de prueba*) con medidas repetidas para la última variable. El análisis mostró un efecto significativo de la *droga*, $F(2, 42)=68.64$,

Experimentos

$p < 0.01$, de la *preexposición*, $F(1, 42)=32.57$, $p < 0.01$ y de los ensayos de prueba, $F(2, 84)=126.12$, $p < 0.01$. También fueron significativas las interacciones *droga x ensayos de prueba*, $F(4,84)= 22.71$, $p < 0.01$, *droga x preexposición*, $F(2, 42)=12.16$, $p < 0.01$ y *droga x ensayos de prueba x preexposición*, $F(4,84)=4.05$, $p < 0.01$. La interacción *ensayos de prueba x preexposición* no fue significativa ($p > 0.05$).

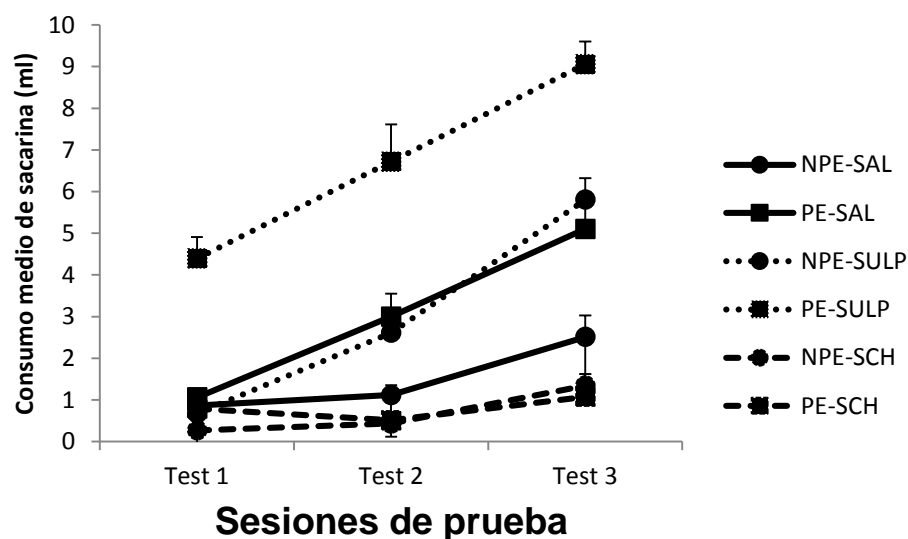


Figura 8. Consumo medio de sacarina sódica durante la fase de prueba. La gráfica muestra los tres ensayos de prueba de tres días consecutivos tras el condicionamiento. Npe.: grupo de no preexposición a sacarina. Pe: grupo de preexposición a sacarina. Sal: grupo de inyección salina. Sulp: grupo de inyección de sulpiride. SCH: grupo de inyección SCH-23390.

El análisis de la triple interacción mostró que en el primer ensayo, la interacción *droga x preexposición* fue significativa, $F(2, 42)=33.10$, $p < 0.01$. El análisis de efectos simples (prueba T-Student) mostró que el cambio de

Experimentos

contexto abolió el efecto de IL en la condición salino, $t(1, 14)=0.91$, $p= 0.37$. Sin embargo, este efecto fue invertido en la condición sulpiride, $t(1, 14)=6.92$, $p< 0.01$. No hubo diferencias significativas entre los grupos Npe y Pe en la condición SCH, $t(1, 14)=1.98$, $p> 0.05$. Los grupos de Npe fueron significativamente diferentes, $F(2, 21)=10.65$, $p< 0.01$. Los animales de la condición SCH bebieron menos sacarina que los de la condición Npe-Sal ($p< 0.01$) y Npe-Sulp ($p< 0.01$). El consumo de sacarina fue similar en los dos últimos grupos. Los consumos de los grupos de Pe fueron significativamente distintos, $F(2, 21)=41.19$, $p< 0.01$. El grupo Pe-Sulp bebió más sacarina que el grupo Pe-Sal ($p< 0.01$) y el grupo Pe-SCH ($p< 0.01$). El consumo de sacarina fue similar para los dos últimos grupos.

El segundo día de prueba se obtuvo un efecto de IL en las condiciones salino y sulpiride. Hubo diferencias entre los grupos de Pe y Npe para la condición salino, $t(1, 14)=3.14$, $p< 0.01$, y sulpiride, $t(1, 14)=3.76$, $p< 0.01$. Las diferencias entre los grupos de Pe y Npe no fueron significativa en la condición SCH, $t(1, 14)=0.24$, $p> 0.05$. El grupo Pe-Sulp bebió más sacarina que el grupo Pe-SCH ($p< 0.05$), y el grupo Pe-Sal ($p< 0.05$). Las comparaciones entre los grupos Npe mostraron que el grupo Npe-Sulp consumió más sacarina que el grupo Npe-Sal ($p< 0.05$) y el grupo Npe-SCH ($p< 0.01$). No existieron diferencias significativas entre los grupos Npe-Sal y Npe-SCH ($p> 0.05$).

La interacción *droga x preexposición* fue significativa el tercer día de prueba, $F(2, 42)=6.29$, $p> 0.01$. Los análisis de los efectos simples mostraron

Experimentos

un efecto de IL en la condición salino $t(1, 14)=2.55$, $p < 0.05$, y Sulp, $t(1, 14)=4.14$, $p < 0.01$ pero no para la condición SCH, $t(1, 14)=1.11$, $p > 0.05$. El consumo de sacarina fue diferente en los grupos de Pe, $F(2, 21)=44.47$, $p < 0.01$. El grupo Pe-Sulp consumió más sacarina que los grupos Pe-Sal y Pe-SCH ($ps < 0.01$). El grupo Pe-Sal ingirió más sacarina que el grupo Pe-SCH ($p < 0.05$). Hubo diferencias significativas entre los grupos Npe, $F(2, 21)=27.08$, $p < 0.05$. El grupo Npe-Sulp consumió más sacarina que los grupos Npe-Sal y Npe-SCH ($ps < 0.01$). Sin embargo, no se hallaron diferencias significativas entre estos dos grupos ($p = 0.19$).

Para finalizar las comparaciones intragrupos mostraron que el consumo de sacarina incrementó a lo largo de los ensayos de prueba en el grupo Pe-Sal, $F(2, 14)=22.04$, $p < 0.01$. Este incremento fue significativo en todos los ensayos (todas las $ps < 0.01$). El consumo del grupo Pe-Sulp también incrementó significativamente con los ensayos, $F(2, 14)=29.53$, $p < 0.01$ pero no hubo diferencias significativas del ensayo 1 al ensayo 2 ($p > 0.05$). El consumo de sacarina fue similar a lo largo de los ensayos de prueba en el grupo Pe-SCH (todas las $ps < 0.05$).

La extinción de la Acs fue significativa en el grupo Npe-Sal, $F(2, 14)=12.58$, $p < 0.01$. El consumo de sacarina incrementó del ensayo 2 al 3 ($p < 0.05$). El patrón de respuesta fue similar en el grupo Npe-Sulp, $F(2, 14)=59.39$, $p < 0.01$, con un incremento significativo del consumo a lo largo de los ensayos de prueba (todas las $ps < 0.01$). El grupo Npe-SCH también incrementó el consumo en los ensayos de prueba, $F(2, 12)=17.53$, $p < 0.05$. Y

Experimentos

se hallaron diferencias significativas en todos los ensayos (todas las $p < 0.05$).

Los resultados muestran un efecto dependencia contextual de la IL y un patrón diferencial de los antagonistas D2 y D1 sobre dicho efecto. El cambio de contexto abolió el efecto de IL en los grupos de salino. Este efecto se observó sólo durante el primer día de prueba. La aplicación de los antagonistas D2 (sulpiride) invirtió este efecto observándose un efecto de IL desde el primer día de prueba. Los antagonistas D1, sin embargo no sólo no alteraron el efecto del cambio contextual sino que lo intensificaron manteniendo la abolición de la IL a lo largo de los tres ensayos de prueba.

Discusión general

Discusión General

Nuestros resultados mostraron que el bloqueo de los receptores D1 y D2 durante las fases de preexposición y de condicionamiento no tuvieron ningún efecto sobre la IL (Experimento 1) ni sobre su especificidad contextual (Experimento 2). Sin embargo, se observaron efectos diferenciales sobre la IL (Experimento 3) y su especificidad contextual (Experimento 4) cuando se aplicaron durante la fase de prueba.

Con relación a los experimentos 1 y 2 podríamos considerar que el fenómeno de incremento de la IL por las claves de seguridad del contexto de prueba parece ser un fenómeno elusivo que puede ser dependiente de variables que normalmente no afectan a otros fenómenos relacionados con la especificidad contextual de la IL. Concretamente nuestros resultados apuntan a que variables como las claves de inyección que normalmente no afectan de forma significativa al efecto de IL pudieron ensombrecer el efecto facilitador del contexto de seguridad sobre el aprendizaje de preexposición. Esta interferencia no ocurrió, en los Experimentos 3 y 4 en los que utilizamos un procedimiento de cambio contextual que tradicionalmente arroja resultados robustos con relación a esta temática de investigación.

En relación a los experimentos 3 y 4, la aplicación de sulpiride, un

antagonista puro de los receptores D2, durante la fase de prueba produjo un efecto de facilitación de la expresión de la IL, incrementado la misma con respecto a los grupos control (salino, Experimento 3) e invirtiendo el efecto supresor que el cambio del contexto tiene sobre dicho fenómeno (Experimento 4). El efecto de la aplicación durante la fase de prueba de SCH, un antagonista dopaminérgico que actúa sobre los receptores D1, produjo una atenuación de la IL (facilitación de la expresión del aprendizaje de condicionamiento), eliminado la misma durante el primer día de prueba (Experimento 3) e intensificando el efecto producido por el cambio de contexto, manteniendo la abolición de la IL a lo largo de los tres días de prueba. Este efecto sólo se produjo durante el primer día de prueba en los grupos de salino (Experimento 4).

El efecto diferencial de ambos tipos de tratamiento sobre la IL nos permite afirmar que nuestros resultados no pueden atribuirse a un cambio de contexto interno debido al cambio del estado de no droga (fases de preexposición y fase de condicionamiento) a droga (fase de prueba).

Los resultados de los grupos de salino se ajustan a lo predicho por las teorías del fallo de recuperación. Según estas teorías en la IL el EC es asociado con la ausencia de consecuencia durante la fase de preexposición. Dado que esta asociación se establece en el contexto de preexposición es preferentemente expresada en este contexto. Cuando el condicionamiento se produce en el mismo contexto de la preexposición se produce un proceso de interferencia proactiva que limita la expresión de la respuesta condicionada

(IL, Experimento 1). Cuando el condicionamiento y la prueba se desarrollan en un contexto diferente del de la fase de preexposición, la interferencia proactiva no se produce permitiendo la expresión del aprendizaje de condicionamiento (especificidad contextual de la IL, Experimento 4).

Desde esta perspectiva y para explicar los efectos de los fármacos dopaminérgicos (principalmente de los que afectan a los receptores D2) en la IL, Weiner (2003) propuso un modelo basado en un mecanismo que controla la capacidad de cambio de respuesta de los sujetos ante las nuevas contingencias. Según el modelo, el núcleo del *core* del Nac sustenta la actividad de un mecanismo, favorecido por el incremento en la transmisión dopaminérgica, que promueve el cambio rápido de la respuesta basada en las contingencias de la preexposición a las relacionadas con el condicionamiento. Este mecanismo de cambio es inhibido por el núcleo *shell* del Nac, cuya actividad se ve favorecida por los decrementos de los niveles de dopamina. Esto se traduce en una reducción la habilidad para cambiar la respuesta, por lo que los sujetos continúan respondiendo en función de las contingencias de la preexposición, facilitando de esta manera el efecto de IL. Los resultados obtenidos en los grupos de sulpiride se ajustan a este modelo. Una vez establecidos los dos aprendizajes (preexposición y condicionamiento), el bloqueo de los receptores D2 durante la fase de prueba redujo aún más los niveles de dopamina del *shell* produciendo la potenciación de la IL observada durante dicha fase (Experimento 3). Aunque el modelo es silente con relación a los efectos dopaminérgicos de los

cambios de contextos, sugiere que las lesiones del hipocampo y áreas parahipocampales producen una atenuación de la IL que es subyacente a una hiperactividad dopaminérgica en el Nac. En este sentido, y acorde con la dependencia contextual del aprendizaje de preexposición planteada desde las teorías asociativas, podemos plantear que el cambio de contexto mediante la conexión hipocampo-Nac podría actuar incrementando la actividad dopaminérgica del NAc, lo que favorecería la actuación del mecanismo de cambio del *core* e interferiría con el mecanismo inhibitorio del *shell* produciendo una atenuación de la IL. En este sentido, la reducción de los niveles de dopamina durante la prueba, mediante la aplicación del antagonista D2, permitiría desbloquear la actuación del mecanismo inhibitorio del cambio invirtiendo el efecto del cambio de contexto (IL). Este efecto, sin embargo, no tendría por qué observarse con la administración de los antagonistas D1.

Como planteamos en la introducción, los receptores D1 no parecen estar implicados directamente en los procesos de aprendizaje que se establecen a lo largo de las diferentes fases de la IL sino en su modulación contextual. Por ello, y en ausencia de cambio de contexto, no obtuvimos ningún efecto de la aplicación de los antagonistas D1 sobre la IL. Estos resultados son coherentes con los obtenidos en estudios en los que la inactivación del hipocampo mediante la aplicación de muscinol durante la fase de prueba no produjo ningún efecto sobre la IL (Holt y Maren, 1999; Maren & Holt, 2000). Aunque no existen estudios sobre los efectos de los

fármacos antagonistas de los receptores D1 en la especificidad contextual de la IL, el incremento y mantenimiento de la abolición de este fenómeno tras el cambio de contexto observado en los grupos SCH parece contrario a los resultados obtenidos en los estudios en los que la lesión del hipocampo produjo una abolición de la especificidad contextual de la IL (Honey y Good, 1993; Quintero y otros, 2011b). Sin embargo, tal y como hemos planteado, en estos estudios la lesión se produjo antes del comienzo de las manipulaciones experimentales, por lo que su efecto podría haber actuado sobre los procesos de codificación y no sólo sobre los procesos de recuperación. En este sentido, no es de extrañar que si el procesamiento del contexto es necesario para que se establezca la especificidad contextual del aprendizaje de preexposición, la lesión de esta estructura no permitiría o limitaría que el aprendizaje EC-ausencia de consecuencia cayese bajo el control contextual. Esto explicaría que el cambio de contexto no afectase a la IL. En nuestro experimento, sin embargo, tanto el aprendizaje de preexposición como el de condicionamiento tuvieron lugar en un estado libre de droga. Esto permitiría el desarrollo del control contextual del aprendizaje de preexposición. Si como hemos planteado previamente los receptores D1 están especialmente implicados en la mediación contextual del aprendizaje EC-ausencia de consecuencia, el bloqueo de su actividad durante la fase de prueba dificultaría la recuperación de dicho aprendizaje facilitando la expresión del aprendizaje de condicionamiento.

Otra explicación, menos interesante de los resultados obtenidos con

los antagonistas de los receptores D1 podría basarse en su papel en la disminución del valor hedónico de la sacarina. De hecho en experimentos sobre preferencia condicionadas se ha demostrado que el bloqueo de los receptores dopaminérgicos D1 reduce la expresión de la misma. Sin embargo, la obtención del efecto de IL en el experimento 1 nos permite dejar fuera esta interpretación.

Para concluir nuestro estudio muestra por primera vez la influencia del sistema dopaminérgico (receptores D1 y D2) en los procesos de recuperación implicados en la IL independientemente de su papel en los procesos de codificación. Acorde con nuestros resultados la disminución de la actividad dopaminérgica mediante el bloqueo de los receptores D2 parece tener un papel relevante en los procesos de recuperación del aprendizaje de preexposición mediante la potenciación del mecanismo inhibitorio del cambio. Sin embargo, la disminución de la actividad dopaminérgica mediante el bloqueo de los receptores D1 adquiere un papel más relevante en los procesos de recuperación basada en la información contextual. En este sentido nuestros datos están más acorde con las teorías que plantean el papel modulador del contexto, en la IL (véase por ejemplo: Bouton, 1993; 1994a; 1994b; Bouton y Bolles, 1985).

Conclusiones

Conclusiones

El presente trabajo analizó la implicación de los receptores D1 y D2 en la expresión de IL. Las principales conclusiones que podemos extraer son las siguientes:

1. Los receptores D1 y D2 juegan un papel central en los procesos de recuperación.
2. El bloqueo de la actividad de los receptores D2 durante la fase de prueba (recuperación) provoca una liberación de la IL. Esto implica que su actividad estaría relacionada con la expresión de la asociación EC-EI.
3. El bloqueo de los receptores D1 genera el efecto inverso, indicando que su actividad parece más relacionada con la expresión de la asociación EC ausencia de consecuencias que se aprende durante la fase de preexposición al futuro EC.
4. Esta relación inversa entre la actividad de los receptores D1 y D2 apoyaría la propuesta de fallo en la recuperación de la IL, dado que su papel diferencial durante la expresión de la IL otorga una función específica.
5. El fallo en la recuperación indica que la IL es la expresión de un proceso de interferencia que se genera entre dos asociaciones de un mismo

Conclusiones

EC.

6. esta propuesta se apoya en los experimentos realizados, donde el bloqueo de los receptores D1 y D2 no afectaron a la expresión de IL cuando son inactivados durante la fase de preexposición y condicionamiento.

7. Los cambios de contextos indican que además la compleja relación de los receptores D1 con la recuperación. Su bloqueo reduce la influencia del contexto y facilita las conductas dirigidas a metas. Este hecho se aprecia tras observar en el experimento 4 que los cambios de contextos reducen la extinción de la asociación EC-EI.

8. El bloqueo de los receptores D2 durante la fase de recuperación reduce la actividad dirigida a meta. Esto facilita que se recupere la relación EC ausencia de consecuencias y no EC-EI, siendo independiente del contexto.

Bibliografía

Bibliografía

- Abi-Dargham, A., Laruelle, M., Aghajanian, G. K., Charney, D. y Krystal, J. (1997). The role of serotonin in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 9, 1-17.
- Ackil, J., Mellgren, R. L., Halgren, C. y Frommer, S. P. (1969). Effects of CS pre-exposure on avoidance learning in rats with hippocampal lesions. *Journal of Comparative & Physiological Psychology*, 69, 739-747.
- Álvarez, R., De La Casa, L.G. & Sánchez, P. (2003). Latent Inhibition as a Model of Schizophrenia: From Learning to Psychopathology. *International Journal of Psychology and Psychological Therapy*, 3(2): 251-266.
- Bouton, M. E. (1994a). Context, ambiguity, and classical conditioning. *Current Directions in Psychological Science*, 3, 49-53.
- Bouton, M. E. (1994b). Conditioning, remembering, and forgetting. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 20, 219-231.
- Bouton, M. E. (1993). Context, time, and memory retrieval en the interferente paradigms of Pavlovian learning. *Psychological Bulletin*, 114, 80-99.

Bibliografía

- Bouton, M. E. (1991). Context and retrieval in extinction and in other examples of interference in simple associative learning. En L. W. Dachowski y C. F. Flaherty (Eds.), *Current topics in animal learning: Brain, emotion, and cognition* (pp. 25-53). Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates.
- Bouton, M. E., y Bolles, R. C. (1985). Contexts, event-memories, and extinction. En P. D. Balsam y A. Tomie (Eds.), *Context and learning* (pp. 133-166). Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum.
- Buhusi, C. V., Gray, J. A. y Schmajuk, N. A. (1998). Perplexing effects of hippocampal lesions on latent inhibition: a neural network solution. *Behavioral Neuroscience*, 112, 316-351.
- Cador, M., Robbins, T. W., Everitt, B. J., Simon, H., LeMoal, M. y Stinus, L. (1991). Limbic-striatal interactions in reward-related processes: modulation by the dopaminergic system. En P. J. Willner y J. Scheel-Kruger (Eds.), *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action* (pp. 225–250). Wiley: Chichester.
- Cardinal, R. N., Parkinson, J. A., Hall, J. y Everitt, B. J. (2002). Emotion and motivation: the role of amygdala, ventral striatum and prefrontal cortex. *Neuroscience & Biobehavioral Review* 26:321–352
- Cassaday, H.J., Mitchell, S. N., Williams, J. H. y Gray, J. A. (1993b). 5,7-Dihydroxytryptamine lesions in the fornix-fimbria attenuate latent inhibition. *Behavioral Neural Biology*, 59, 194-207.
- Clark, A. J. M., Feldon, J. y Rawlins, J. N. P. (1992). Aspiration lesions of rat ventral hippocampus disinhibit responding in conditioned suppression or extinction, but spare latent inhibition and the partial reinforcement extinction effect. *Neuroscience*, 48, 821-829.

Bibliografía

- Coutureau, E., Blundell, P. J. y Killcross, S. (2001). Basolateral amygdale lesions disrupt latent inhibition in rats. *Brain Research Bulletin*, 56, 49-53.
- Coutureau, E., Gosselin, O. y Di Scala, G. (2000). Restoration of latent inhibition by olanzapine but not haloperidol in entorhinal cortex-lesioned rats. *Psychopharmacology*, 150, 226-232.
- Coutureau, E., Galani, R., Gosselin, O., Majchrzak, M. y Di Scala, G. (1999). Entorhinal but not hippocampal or subicular lesions disrupt latent inhibition in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 72, 143-157.
- De la Casa, L. G. (2002). La inhibición latente como un procedimiento de análisis del proceso atencional ante estímulos irrelevantes. *Revista de Psicología General y Aplicada*, 55 (2): 263-283.
- De la Casa, L. G. & Lubow, R.E. (2002). An empirical analysis of the super-latent inhibition effect. *Animal Learning & Behavior*, 30 (2): 112-120.
- De la Casa, L.G., Mena, A, Orgaz, A. & Fernández A. (2013). Disentangling the effects of context change and context familiarity on Latent Inhibition with a Conditioned Taste Aversion procedure. *Learning and Motivation*, 44: 127-136.
- Denniston, J. C., Savastano, H. I., y Miller, R. R. (2001). The extended comparator hypothesis: Learning by contiguity, responding by relative strength. En R. R. Mowrer y S. B. Klein (Eds.), *Handbook of contemporary learning theories* (pp65-117). Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates.

Bibliografía

- Deutch, A. Y. y Cameron, D. S. (1992). Pharmacological characterization of dopamine systems in the nucleus accumbens core and shell. *Neuroscience*, 46, 49-56.
- Feldon, J. Shofel, A. & Weiner, I. (1991). Latent inhibition is unaffected by direct dopamine agonists. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 38:309-314.
- Fendt, M. y Fanselow, M. S. (1999). The neuroanatomical and neurochemical basis of conditioned fear. *Neuroscience Biobehavioral Review*, 23, 743-760.
- Floresco, S. B., Todd, C. L. y Grace, A. A. (2001). Glutamatergic afferents from the hippocampus to the nucleus accumbens regulate activity of ventral tegmental area dopamine neurons. *Journal of Neuroscience*, Jul 1; 21(13), 4915-22.
- Gal, G. (2000). *Disrupted and undisruptable latent inhibition following shell and core lesions: the dual role of the nucleus accumbens in latent inhibition*. Tesis Doctoral, Tel Aviv University.
- Gal, G., Schiller, D. & Weiner, I. (2005). Latent inhibition is disrupted by nucleus accumbens shell lesion but is abnormally persistent following entire nucleus accumbens lesion: The neural site controlling the expression and disruption of the stimulus preexposure effect. *Behavioural Brain Research*, 162 (2): 246-255
- Gallagher, M. y Chiba, A. A. (1996). The amygdala and emotion. *Current Opinion in Neurobiology*, 6, 221-227.

Bibliografía

- Goto, Y. & Grace, A. (2008). Limbic and cortical information processing in the nucleus accumbens, *Trends in Neurosciences*, .31(11): 552-558.
- Grace, A. A. (1991). Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience*, 41, 1-24.
- Grahame, N., Barnet, R., Gunther, L. y Miller, R. (1994). Latent inhibition as a performance deficit resulting from CS-context associations. *Animal Learning & Behavior*, 22, 395-408.
- Gray, J. (1998). Integrating Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 24 (2): 249-266.
- Grinvald, A., Shoham, D., Shmuel, A., Glaser, D., Vanzetta, I., Shtoyerman, E., Slovin H., Sterkin A., Wijnbergen C., Hildesheim R. y Arieli A. (1999). In-vivo optical imaging of cortical architecture and dynamics. En W. Windhorst y H. Johansson (Eds), *Modern techniques in neuroscience research* (pp. 13-25). New York: Springer .
- Groenewegen, H. J., Wright, C. I. y Beijer, A. V. J. (1996). The nucleus accumbens: gateway for limbic structures to reach the motor system? *Progress Brain Research*, 107, 485-511.
- Groenewegen, H. J., Berendse, H. W., Wolters, J. G. y Lohman, A. H. M. (1990). The anatomical relationship of the prefrontal cortex with the striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: evidence for a parallel organization. *Progress Brain Research*, 85, 95-118.

Bibliografía

- Groenewegen, H. G., Wright, C. I., Beijer, V. J. y Voorn, P. (1999). Convergence and segregation of ventral striatal inputs and outputs. In: McGintry JF (ed) *Advancing from the ventral striatum to the extended amygdala. Annals of the New York Academy of Sciences*, 877, 49-64.
- Groenewegen, H. J., Berendse, H. W., Meredith, G. E., Haber, S. N., Voorn, P., Wolters, J. G. y Lohman, A. H. M. (1991). Functional anatomy of the ventral, limbic system-innervated striatum. En P. Willner y J. Scheel-Kruger (Eds.), *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action* (pp. 19–60). Wiley: Chinchester.
- Groenewegen, H. J., Vermeulen-Van der Zee, E., te Kortschot, A. y Witter, M. P. (1987). Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. A study using anterograde transport of phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Neuroscience*, 23, 103-120.
- Hall, G. y Channell, S. (1985). Latent inhibition and conditioning after pre-exposure to the training context. *Learning and Motivation*, 16, 381-397.
- Hall, G. & Honey, R.C. (1990). Context-specific conditioning in the conditioned-emotional-response procedure. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 16(3), , 271-278.
- Hall G. & Minor, H. (1984). A search for context-stimulus associations in latent inhibition. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B: Comparative and Physiological Psychology*, 36(2): 145-169.
- Heimer, L., Alheid, G. F., de Olmos, J. S., Groenewegen, H. J., Haber, S. N., Harlan, R. E. y Zahm, D. S. (1997). The accumbens: beyond the coreshell dichotomy. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinic Neuroscience*, 9, 354-381.

Bibliografía

- Holland, P.C. y Gallagher, M. (1999). Amygdala circuitry in attentional and representational processes. *Trends in Cognitive Sciences*, 3, 65-73.
- Holt, W. y Maren, S. (1999). Muscimol inactivation of the dorsal hippocampus impairs contextual retrieval of fear memory. *Journal of Neuroscience*, 19, 9054-9062.
- Honey, R. C. y Good, M. (1993). Selective hippocampal lesions abolish the contextual specificity of latent inhibition and conditioning. *Behavioral Neuroscience*, 107, 23-33.
- Iordanova, M., Westbrook, F. & Killcross, S. (2006). Dopamine activity in the nucleus accumbens modulates blocking in fear conditioning, *European Journal of Neuroscience*, 24: 3265–3270.
- Iversen, L. (1976). Dopamine in the brain and its possible role in madness. *Trends in Biochemical Sciences*, 1(2): 121-123.
- Jeanblanc, J., Hoeltzel, A. y Louilot, A. (2002a). Dissociation in the involvement of dopaminergic neurons innervating the core and shell subregions of the nucleus accumbens in latent inhibition and affective perception. *Neuroscience*, 111, 315-323.
- Joel, D., Weiner, I. y Feldon, J. (1997). Electrolytic lesions of the medial prefrontal cortex in rats disrupt performance on an analog of Wisconsin Card Sorting Test but do not disrupt latent inhibition: implications for animal models of schizophrenia. *Behavioral Brain Research*, 85, 187-201.

Bibliografía

- Kaye, H. y Pearce, J. M. (1987a). Hippocampal lesions attenuate latent inhibition and the decline of the orienting response in rats. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 39B, 107-125.
- Kaye, H. y Pearce, J. M. (1987b). Hippocampal lesions attenuate latent inhibition of a CS and of a neutral stimulus. *Psychobiology*, 15, 293-299.
- LaBerge, D. (1975). Acquisition of automatic processing of perceptual and associative learning. En P. M. A. Rabbitt y S. Dornic (Eds.), *Attention and performance V* (pp. 50–64). New York: Academic Press.
- LeDoux, J. E. (1992). Brain mechanisms of emotion and emotional learning. *Current Opinion in Neurobiology*, 2, 191-197.
- Le Moal, M. y Simon, H. (1991). Mesocorticolimbic dopaminergic network: Functional and regulatory roles. *Physiological Reviews*, 71, 155-234.
- Lieberman, J. A., Mailman, R. B., Duncan, G., Sikich, L., Chakos, M., Nichols, D. E. y Kraus, J. E. (1998). Serotonergic basis of antipsychotic drug effects in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 44, 1099-1117.
- Louilot, A. y Besson, C. (2000). Specificity of amygdalostriatal interactions in the involvement of mesencephalic dopaminérgico neurons in affective perception. *Neuroscience*, 96, 73-82.
- Louilot, A., Simon, H., Taghzouti, K. y Le Moal, M. (1985). Modulation of dopaminergic activity in the nucleus accumbens following facilitation or blockade of the dopaminergic transmission in the amygdala: a study by in vivo differential pulse voltammetry. *Brain Research*, 347, 141-145

Bibliografía

- Lubow, R. E. (1989). *Latent inhibition and conditioned attention theory*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Lubow, R. E. y Moore, A. U. (1959). Latente inhibition: the effect of nonreinforced pre-exposure to the conditional stimulus. *Journal of Comparative Psychology*, 52, 415-419.
- Lubow, R. E. y Gewirtz, J. C. (1995). Latent inhibition in humans: data, theory, and implications for schizophrenia. *Psychological Bulletin*, 117, 87-103.
- Lubow R.E. & Weiner I. (2010). Issues in latent inhibition research and theory: an overview. En R.E. Lubow e I. Weiner (Eds.), *Latent Inhibition: Cognition, Neuroscience and Applications to Schizophrenia* (pp. 531-557). Nueva York: Cambridge University Press.
- Lubow, R. E., Weiner, I., y Schnur, P. (1981). Conditioned attention theory. En G. H. Bower (Ed.), *The Psychology of Learning and Motivation: New York: Academic Press*.
- Mackintosh, N. J. (1975b). A theory of attention: Variations in the associability of stimuli with reinforcement. *Psychological Review*, 82, 276-298.
- Maldonado-Irizarry, C. S. y Kelley, A. E. (1995). Excitotoxic lesions of the core and shell subregions of the nucleus accumbens differentially disrupt body weight regulation and motor activity in rat. *Brain Research Bulletin*, 38, 551-559.
- Maldonado-Irizarry, C. S. y Kelley, A. E. (1994). Differential behavioral effects following microinjection of an NMDA antagonist into nucleus accumbens subregions. *Psychopharmacology*, 116, 65-72.

Bibliografía

- Maren, S. y Holt, W. (2000). The hippocampus and contextual memory retrieval in Pavlovian conditioning. *Behavioral Brain Research*, 110, 97-108.
- Meltzer, H. Y. (1999). The role of serotonin in antipsychotic drug action. *Neuropsychopharmacology*, 21, 106S-115S.
- Meltzer, H. Y. (1989). Clinical studies on the mechanism of action of clozapine: The dopamine-serotonin hypothesis of schizophrenia. *Psychopharmacology*, 99, S18-S27.
- Meltzer, H. Y. y Nash, J. F. (1991). Effects of antipsychotic drugs on serotonin receptors. *Pharmacology Review*, 43, 587-604.
- Meyer, U., Feldon, J. & Yee, B. (2009). A Review of the Fetal Brain Cytokine Imbalance Hypothesis of Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 35 (5): 959–972.
- Miller, R. R., y Escobar, M. (2001). Contrasting acquisition-focused and performance focused models of acquired behavior. *Current Directions in Psychological Science*, 10, 141-145.
- Miller, R. R., y Escobar, M. (2002). Learning: Laws and models of basic conditioning. En H. Pashler y R. Gallistel (Eds.), *Stevens' handbook of experimental psychology (3ª Ed., Vol. 3): Learning, motivation, and emotion* (pp. 47-102). Nueva York: John Wiley and Sons, Inc.
- Miller, R. R., y Grace, R. C. (2003). Conditioning and learning. En A. F. Healy y R. W. Proctor (Eds.), *Handbook of psychology (Vol. 4): Experimental psychology* (pp. 357-397). Hoboken, NJ: John Wiley and Sons, Inc.

Bibliografía

- Miller, R. R, y Matzel, L. D. (1988). The comparator hypothesis: A response rule for the expresión of associations. En G. H. Bower (Ed.), *The Psychology of Learning and Motivation (Vol. 22)* (pp. 51-92). San Diego: Academia Press.
- Miller, R. R, y Matzel, L. D. (1989). Contingency and relative associative strength. En S. B. Klein y R. R. Bower (Eds.), *Contemporary learning theories: Pavlovian conditioning and the status of learning theory* (pp. 61-84). Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates.
- Miller, R. R., y Schachtman, T. R. (1985). The several roles of context at the time of retrieval. En P. D. Balsam y A. Tomie (Eds.), *Context and Learning* (pp. 167-194). Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates.
- Moore, H., West, A. R. y Grace, A. A. (1999). The regulation of forebrain dopamine transmission: relevance to the pathophysiology and psychopathology of schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 46, 40-55.
- Morris, R., Griffiths, O., Le Pelle E. & Weickert, T. (2013). Attention to Irrelevant Cues Is Related to Positive Symptoms in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 39 (3): 575–582.
- Murphy, C. A., Pezze, M., Feldon, J. y Heidbreder, C. (2000). Differential involvement of dopamine in the shell and core of the nucleus accumbens in the expression of latent inhibition to an aversively conditioned stimulus. *Neuroscience*, 97, 469-477.
- Nelson, J. B. (2002). Context specificity of excitation and inhibition in ambiguous stimuli. *Learning and Motivation*, 33, 284-310.

Bibliografía

- Nieoullon, A. (2002). Dopamine and the regulation of cognition and attention. *Progress in Neurobiology*, 67:53–83.
- O'Donnell, P. y Grace, A. A. (1998). Dysfunctions in multiple interrelated systems as the neurobiological bases of schizophrenic symptom clusters. *Schizophrenia Bulletin*, 24, 267-283.
- Pennartz, C. M., Groenewegen, H. J. y Lopes da Silva, F. H. (1994). The nucleus accumbens as a complex of functionally distinct neuronal ensembles: an integration of behavioural, electrophysiological and anatomical data. *Progress in Neurobiology*, 42, 719-761.
- Pouzet, B., Veenman, C. L., Yee, B. K., Feldon, J. y Weiner, I. (1999). The effects of radiofrequency lesion or transection of the fimbria fornix on latent inhibition in the rat. *Neuroscience*, 91, 1355-1368.
- Quintero, E., Diaz, E., Vargas, J.P., Romero, De la Casa, L.G., & López, J.C. (2011) Ventral subiculum involvement in latent inhibition context specificity. *Physiology & Behaviour*, 414-420.
- Robbins, T. W. y Everitt, B. J. (1992). Function of dopamine in the dorsal and ventral striatum. *Seminars in Neuroscience*, 4, 2, 110-127.
- Robbins, T. W. y Everitt, B. J. (1982). Functional studies of the central catecholamines. *International Review in Neurobiology*, 23, 303-365.
- Schmajuk, N. A., Gray, J. A. & Larrauri, J. A. (2005). A pre-clinical Study Showing How Dopaminergic Drugs Administered During Pre-Exposure Can Impair or Facilitate Latent Inhibition. *Psychopharmacology*, 177: 272-279.

Bibliografía

- Schmajuk, N. A., Gray, J. A. & Larrauri, J. A. (2004). A pre-clinical Study Showing How Dopaminergic Drugs Administered During Pre-Exposure Can Impair or Facilitate Latent Inhibition. *Psychopharmacology*, 177: 272-279.
- Schmajuk, N. A., Lam, Y. W., y Gray, J. A. (1996). Latent inhibition: A neural network approach. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 22, 321-349.
- Schmajuk, N., Lam, Y. W. y Christiansen, B. A. (1994). Latent inhibition of the rat eyeblink response: effect of hippocampal aspiration lesions. *Physiology and Behavior*, 55, 597-601.
- Schneider, W., y Shiffrin, R. M. (1977). Controlled and automatic human information processing: Detectiton, search and attention. *Psychological Review*, 84, 1-66.
- Shiffrin, R. M., y Schneider, W. (1977). Controlled and automatic human information processing: II. Perceptual learning, automatic attending and a general theory. *Psychological Review*, 84, 127-190.
- Shohamy, D., Allen, M. T. y Gluck, M. A. (2000). Dissociating entorhinal and hippocampal involvement in latent inhibition. *Behavioral Neuroscience*, 114, 867-874.
- Solomon, P., Nichols, G. L., Kiernan, J. M. I., Kamer, R. S. y Kaplan, L. J. (1980). Differential effects of lesions in medial and dorsal raphe of the rat: latent inhibition and septo-hippocampal serotonin levels. *Journal of Comparative Physiological Psychological*, 94, 145-154.

Bibliografía

- Stahl, S. M. (1988). Basal ganglia neuropharmacology and obsessive compulsive disorder: the obsessive-compulsive disorder hypothesis of basal ganglia dysfunction. *Psychopharmacology Bulletin*, *24*, 370-374.
- Swerdlow, N. R. y Koob, G. F. (1987). Dopamine, schizophrenia, mania and depression: toward a unified hypothesis of cortico-striatopallido-thalamic function. *Behavioral Brain Science*, *10*, 215-217.
- Taghzouti, K., Louilot, A., Herman, J., Le Moal, M. y Simon, H. (1985a). Alternation behavior, spatial discrimination, and reversal disturbances following 6-hydroxydopamine lesions in the nucleus accumbens of the rat. *Behavioral and Neural Biology*, *44*, 354-363.
- Taghzouti, K., Simon, H., Louilot, A., Herman, J. P. y Le Moal, M. (1985b). Behavioral study after local injection of 6-hydroxydopamine into the nucleus accumbens in the rat. *Brain Research*, *345*, 9-20.
- Totterdell, S. y Meredith, G. E. (1997). Topographical organization of projections from the entorhinal cortex to the striatum of the rat. *Neuroscience*, *78*, 715-729.
- Traverso, L. M., Quintero, E., Vargas, J. P., De la Casa, L. G. y López, J.C. (2010). Taste Memory Trace Disruption by Ap5 Administration in Basolateral Amygdala. *Neuroreport*, *21*, 99-103.
- Urushihara, Kouji; Miller, Ralph R. (2006). Overshadowing and the outcome-alone exposure effect counteract each other. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, *32*(3): 253-270.
- Weiner, I. (2010). What the brain teaches us about latent inhibition. LI: the neural substrates of the expression and prevention of LI. En R.E. Lubow

Bibliografía

- & I. Weiner (Ed.), *Latent Inhibition (23-39)*: United States of America: Cambridge University Press.
- Weiner, I. (2003). The “two-headed” latent inhibition model of schizophrenia: modeling positive and negative symptoms and their treatment. *Psychopharmacology*, 169, 257-297.
- Weiner, I. (1990). Neural substrates of latent inhibition: The switching model. *Psychological Bulletin*, 108, 443-461.
- Weiner, I. y Feldon, J. (1997). The switching model of latent inhibition: An update of neural substrates. *Behavioral Brain Research*, 88, 11-25.
- Weiner, I., Tarrasch, R. y Feldon, J. (1996c). Basolateral amygdala lesions do not disrupt latent inhibition. *Behavioral Brain Research*, 72, 73-81
- Weiner, I., Lubow, R.E. & Feldon, J. (1988). Disruption of latent inhibition by acute administration of low doses of amphetamine. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 30: 871-878.
- Weiner, I., Izraeli-Telerant, A. y Feldon, J. (1987c). Latent inhibition is not affected by acute or chronic administration of 6 mg/kg of amphetamine. *Psychopharmacology*, 91, 346-35.
- Weiner, I., Feldon, J., Tarrasch, R., Hairston, I. y Joel, D. (1998). Fimbria-fornix cut affects spontaneous activity, two-way avoidance and delayed non matching to sample, but not latent inhibition. *Behavioral Brain Research*, 96, 59-70.
- Yee, B. K., Feldon, J. y Rawlins, J. N.P. (1995). Latent inhibition in rats is abolished by NMDA-induced neuronal loss in the retrohippocampal

Bibliografía

region but this lesion effect can be prevented by systemic haloperidol treatment. *Behavioral Neuroscience*, 109, 227-240.

Zahm, D. S. (2000). An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 24, 85-105.

Zahm, D. S. (1999). Functional-anatomical implications of the nucleus accumbens core and shell subterritories. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877, 113-128.

Zahm, D. S. y Brog, J. S. (1992). On the significance of subterritories in the “accumbens” part of the rat ventral striatum. *Neuroscience*, 50, 751-767.