



VNIVERSITAT
E VALÈNCIA

FACULTAD DE PSICOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE PSICOBIOLOGÍA
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN “PSICOBIOLOGÍA DE LAS
DROGODEPENDENCIAS”

**LA INHIBICIÓN PRE-PULSO COMO MARCADOR
PSICOFISIOLÓGICO DE LA SENSIBILIDAD A LOS
EFECTOS REFORZANTES DE LA COCAÍNA EN
RATONES MACHOS Y HEMBRAS**

Programa de doctorado: Neurociencias

Tesis doctoral presentada por:
Concepción Inmaculada Navarro Francés

Dirigida por:
Dra. M^a Carmen Arenas Fenollar
Dra. Carmen Manzanedo Pérez
Dr. José Miñarro López

Valencia, 2015



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

Las Dras. M. Carmen Arenas Fenollar y Carmen Manzanedo Pérez, y el Dr. José Miñarro López, profesores de la Unidad de Investigación de Psicología de las Drogodependencias, del Departamento de Psicobiología de la Universitat de València,

CERTIFICAN

Que la tesis doctoral presentada por Doña Concepción Inmaculada Navarro Francés, con el título “La Inhibición Pre-pulso como Marcador Psicofisiológico de la Sensibilidad a los Efectos Reforzantes de la Cocaína en Ratones Machos y Hembras” ha sido realizada bajo su dirección y que tras haberla examinado hacen constar su autorización para que se realicen los trámites conducentes a su defensa.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firman el presente certificado en Valencia a 28 de septiembre de 2015

Fdo. M. Carmen Arenas Fenollar
Profesora TU de Psicobiología

Fdo. Carmen Manzanedo Pérez
Profesora TU de Psicobiología

Fdo. José Miñarro López
Catedrático de Psicobiología

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar me gustaría agradecer a mis directores, la Dra. M.Carmen Arenas, la Dra. Carmen Manzanedo y el Dr. José Miñarro, por los consejos que me han dado y el tiempo que han dedicado a la realización de esta tesis. He aprendido mucho de vosotros, gracias a los tres.

A la Dra. Carmen Manzanedo quiero agradecerle el interés que ha mostrado desde el principio en transmitirme sus conocimientos para poder realizar este trabajo, en especial agradecerle su buen humor porque siempre ha hecho que todo sea más fácil.

Al Dr. José Miñarro, quiero transmitirle mi gratitud por haberme integrado en este gran grupo de investigación. Por facilitarme todos los medios posibles para poder realizar esta tesis y aportar todo su saber para perfeccionar la misma.

De forma especial quiero agradecer a la Dra. M.Carmen Arenas todos estos años de apoyo en mi trayectoria profesional y personal, ha sido una experiencia muy enriquecedora poder compartir tantos momentos de trabajo juntas. Te agradezco la paciencia, sinceridad y cercanía que siempre me has brindado, has sido una gran amiga en todo momento. Muchas gracias M.Carmen.

También quiero expresar mi agradecimiento a la Dra. Marta Rodríguez y a la Dra. Asunción Aguilar, dos grandes profesionales que siempre me han tratado con mucha amabilidad, dispuestas a compartir sus conocimientos y experiencia. Muchas gracias a las dos.

A la Dra. Araceli Puig quiero agradecerle su apoyo en los comienzos de esta tesis, siempre muy cercana conmigo a pesar de la distancia. Gracias de todo corazón.

Quiero agradecer a todas las personas que han compartido conmigo el tiempo de trabajo en los despachos y en el laboratorio. A mis compañeros, ellos han hecho que el trabajo fuese más ameno, por transmitir todos sus conocimientos y por dedicar horas y horas de sus vidas a la investigación, que no siempre es fácil. Amparo, Ana, Arantxa, Aroa, Carles, Carmen, Concha, Cristina, Federica, Ferran, Juan Carlos, Maca, Manu, Marina, Mipu, Pablo, Pilar, Sandra y Xin. Muchas gracias a todos.

A toda mi familia y amigos, por la paciencia que han tenido soportando mis malos momentos. Pero sobre todo por aconsejarme, apoyarme y por creer ciegamente en mí. Con vuestra ayuda, cada uno a su manera, este camino ha resultado ser más fácil.

Pero mi mayor agradecimiento se lo debo a mis padres, Silvestre y Concha, a mi hermano Silvestre y a Jose. Gracias por apoyarme en todas las decisiones que he tomado a lo largo de la vida, sin duda sois mis pilares, sin vosotros este trabajo no hubiese tenido sentido. Os quiero.

A mis padres, Silvestre y Concha.

La realización de la presente Tesis Doctoral ha sido posible gracias a la ayuda de:

- Conselleria de Educación, Dirección General de Política Científica; GEVA - Generalitat Valenciana; 4918 - Programa Prometeo (I+D) para grupos de investigación de excelencia (PROMETEO/2009/072).
- Ministerio de Economía y Competitividad. Instituto de Salud Carlos III (RETICS) "RED DE TRASTORNOS ADICTIVOS" (RD12/0028/0005).

RESUMEN

La adicción a la cocaína se caracteriza por una persistente y alta susceptibilidad a la recaída, y hasta el momento, no existe ninguna terapia, ni psicológica ni farmacológica, eficaz para su tratamiento por lo que la prevención, tanto en el inicio del consumo como en la recaída, es un objetivo prioritario. El presente trabajo valora el endofenotipo de la Inhibición Pre-Pulso (IPP) del reflejo de sobresalto como marcador psicofisiológico para detectar los sujetos que presenten mayor vulnerabilidad a los efectos reforzantes de la cocaína. Para ello, en primer lugar, ratones clasificados según su mayor o menor IPP fueron evaluados en la adquisición, extinción y reinstauración del Condicionamiento de Preferencia de Lugar (CPL) inducido con diferentes dosis de cocaína (1, 6, y 12.5 mg/kg). Posteriormente, se determinó el perfil cognitivo-comportamental de los ratones con mayor o menor respuesta en la IPP, con el fin de explicar su sensibilidad a los efectos de la cocaína observada en el CPL. Específicamente se evaluó: actividad motora espontánea, búsqueda de la novedad, conducta social, aprendizaje relacional y perceptivo, memoria espacial y emocional, nivel de ansiedad en un entorno novedoso y desánimo conductual/anhedonia. Los principales resultados obtenidos indican que los sujetos con una menor IPP presentan una menor sensibilidad a la cocaína, una mayor persistencia en la conducta de búsqueda de la droga cuando resulta gratificante y una menor valoración de los efectos negativos de un castigo a largo plazo que los animales con una mayor IPP. Por tanto, el endofenotipo de la IPP puede utilizarse como marcador de la vulnerabilidad de un sujeto a mostrar una conducta compulsiva de búsqueda de la cocaína, y por tanto a desarrollar un trastorno por uso de sustancia.

Palabras clave: Cocaína, IPP, ratones machos y hembras, CPL, refuerzo, endofenotipo, vulnerabilidad.

ABSTRACT

Drug addiction is characterised by a persistent and high probability of relapse, and there is no effective psychological or pharmacological therapy for its treatment. Thus, prevention is a priority both with respect to initiating consumption and relapse. The present study evaluates the Pre-Pulse Inhibition of the Startle Reflex (PPI) endophenotype as a psychophysiological marker for detecting subjects that are more vulnerable to the rewarding effects of cocaine. For this purpose, mice were classified as high or low PPI and were then evaluated in the acquisition, extinction and restatement of Conditioned Place Preference (CPP) induced by different doses of cocaine (1, 6, y 12.5 mg/kg). Subsequently, we determined the cognitive and behavioural profile of mice with high and low responses on the PPI with aim of explaining their sensitivity to the effects of cocaine on CPP. The following parameters were evaluated: spontaneous motor activity, novelty seeking, social behaviour, relational and perceptive learning, spatial and emotional memory, level of anxiety in a novel environment, and depressive behaviour/anhedonia. The results indicated that low PPI subjects were less sensitive to the rewarding effects of cocaine, showed a higher persistence of drug-seeking behaviour when the drug was rewarding, and were less influenced by the long-term negative effects of punishment than high PPI animals. Therefore, we conclude that the PPI endophenotype can be used as a marker of subjects that are more likely to display compulsive cocaine-seeking behaviour and, thus, to develop a substance use disorder (SUD).

Keywords: Cocaine, PPI, male and female mice, CPP, reward, endophenotype, vulnerability.

ÍNDICE

1. Introducción.....	20
2. Cocaína.....	25
2.1. Mecanismo de acción	29
2.2. La Patología dual en consumidores de cocaína	34
3. Inhibición pre-pulso del reflejo de sobresalto a un estímulo acústico (IPP).....	41
3.1. Historia de la IPP.....	42
3.2. Modelo animal de la IPP	45
3.3. Bases neurales de la IPP.....	46
3.4. Relación entre la IPP y el consumo de cocaína.....	49
3.5. Relación entre la IPP y la Patología dual	56
4. El condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) como modelo animal para el estudio de los efectos reforzantes de la cocaína.....	63
4.1. Historia del CPL.....	63
4.2. Procedimiento del CPL (la técnica).....	65
5. CPL y cocaína.....	73
6. Hipótesis y objetivos del estudio	77

7. Estudio 1: IPP y CPL	82
7.1. Material y métodos.....	86
7.1.1. Animales.....	86
7.1.2. Drogas.....	87
7.1.3. Aparatos.....	87
7.2. Procedimiento.....	88
7.2.1. Procedimiento del Experimento 1: CPL inducido con 1 mg/kg de cocaína	89
7.2.2. Procedimiento del Experimento 2: CPL inducido con 6 mg/kg de cocaína	94
7.2.3. Procedimiento del Experimento 3: CPL inducido con 12.5mg/kg de cocaína	95
7.3. Análisis estadísticos	95
7.4. Resultados	98
7.4.1. Resultados del Experimento 1: CPL inducido con 1 mg/kg de cocaína	98
7.4.2. Resultados del Experimento 2: CPL inducido con 6 mg/kg de cocaína	102
7.4.3. Resultados del Experimento 3: CPL inducido con 12.5 mg/kg de cocaína	107
7.4.4. Resultados de los tres CPL juntos (inducidos con 1, 6 y 12.5 mg/kg de cocaína)	114
8. Estudio 2: Perfil Conductual.....	119
8.1. Material y métodos.....	122
8.1.1. Animales.....	122
8.1.2. Aparatos.....	122
8.2. Procedimiento.....	129

8.2.1.	Procedimiento del Experimento 4: IPP, laberinto elevado en cruz, test de suspensión de la cola y prueba de la preferencia por la novedad.....	130
8.2.2.	Procedimiento del Experimento 5: IPP, test del campo abierto y test de la evitación pasiva	132
8.2.3.	Procedimiento del Experimento 6: IPP, test reconocimiento del objeto novedoso, prueba de la interacción social y laberinto Hebb Williams	134
8.3.	Análisis estadísticos	144
8.4.	Resultados	148
8.4.1.	Resultados del Experimento 4: IPP, laberinto elevado en cruz, test de suspensión de la cola y prueba de la preferencia por la novedad	148
8.4.2.	Resultados del Experimento 5: IPP, test del campo abierto y test de la evitación pasiva.....	152
8.4.3.	Resultados del Experimento 6: IPP, test del reconocimiento del objeto novedoso, prueba de la interacción social y laberinto Hebb Williams	159
9.	Discusión	178
10.	Conclusiones	195
11.	Bibliografía	198

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

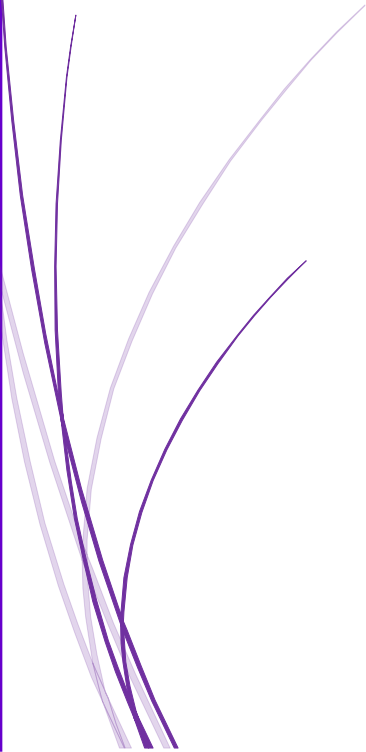
ATV	Área tegmental ventral.
BLA	Amígdala basolateral.
CCA	Cortex cingulado anterior.
CI	Colículo inferior.
COF	Corteza orbito-frontal.
CPFm	Corteza prefrontal medial.
CPL	Condicionamiento de preferencia de lugar.
CS	Colículo superior.
CSPP	Circuito cortico-estriado-palido-talámico.
DA	Dopamina.
DAT	Transportador de la dopamina.
DCU	Dependientes de la cocaína.
DSM-5	Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales.
E2A	Número de aproximaciones totales de exploración en la prueba del reconocimiento del objeto novedoso.
E2T	Tiempo total de exploración en la prueba del reconocimiento del objeto novedoso.
ECA	<i>Epidemiologic Catchment Area</i>
EMCDDA	Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías.
GABA	Ácido gamma-aminobutírico

GLU	Glutamato.
IDA	Índice de discriminación del número de aproximaciones al objeto novedoso.
IDT	Índice de discriminación del tiempo del objeto novedoso.
IPP	Inhibición pre-pulso.
ITI	Intervalo entre los estímulos.
KO	Knockout.
MDMA	4-Metilendioximetanfetamina.
NAcc	Núcleo accumbens.
NC	Núcleo coclear.
NCD	Núcleo coclear dorsal.
NCV	Núcleo coclear ventral.
NE	Norepinefrina.
NESARC	<i>National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions</i>
NET	Transportador de noradrenalina/norepinefrina.
NIDA	Instituto nacional de las drogas de abuso.
NTVL	Núcleo tegmental ventro-lateral.
PD	Patología dual.
PnC	Núcleo reticular pontino-caudal.
%EntraBA	Porcentaje de entradas en brazos abiertos en la prueba del laberinto elevado en cruz.
%TBA	Porcentaje de tiempo en brazos abiertos en la prueba del laberinto elevado en cruz.

PND	Día post-natal.
Post-C	Post-Condicionamiento.
PPTg	Núcleo tegmental pedúnculo-pontino.
Pre-C	Pre-Condicionamiento.
RCU	Consumidores recreacionales de cocaína.
RS	Respuesta de sobresalto.
SERT	Transportador de la serotonina.
SNC	Sistema Nervioso Central
TDAH	Trastorno por déficit de atención con hiperactividad.
TEA	Trastorno del espectro autista.
TM	Trastorno mental.
TOC	Trastorno obsesivo-compulsivo.
TUS	Trastorno por el uso de sustancias.
UHR	Riesgo ultra alto de padecer psicosis.
UNODC	Oficina de las naciones unidas contra las drogas y el delito.
WT	<i>Wild tipe.</i>



INTRODUCCIÓN



1. Introducción

El consumo de cocaína supone un problema de salud dentro del ámbito de las drogodependencias con graves consecuencias sociales y económicas. Se trata de un problema que no sólo afecta a los drogodependientes, sino a todo su entorno tanto familiar como social. Hay que resaltar la alta prevalencia de su consumo en todo el mundo, siendo la segunda droga ilegal más consumida en Europa después del cannabis (EMCDDA, Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías, 2014; 2015). España presenta los índices de consumo de cocaína más altos de los países de la Comunidad Europea, similares a los de Estados Unidos, que es el país de mayor prevalencia en el mundo (EMCDDA, 2014).

La adicción a la cocaína se caracteriza por una persistente y alta susceptibilidad a la recaída. Además, su uso compulsivo se asocia con múltiples trastornos cardiovasculares, neurológicos y psiquiátricos, siendo habitual la comorbilidad. Un 73,4% de los adictos a la cocaína tienen un diagnóstico dual y este está asociado a una mayor gravedad del problema, una mayor discapacidad para el sujeto y un peor curso en su evolución. La combinación de la psicoterapia y la farmacoterapia son componentes esenciales para el tratamiento de los trastornos por abuso de sustancias, aunque ninguno de ellos parece ser totalmente eficaz en el tratamiento de la dependencia de las drogas y más específicamente a la cocaína. Por todo ello, la prevención del consumo de drogas se considera un reto social prioritario en la lucha contra la adicción. Y con este propósito, la obtención de marcadores psicofisiológicos que nos permitan detectar los sujetos más vulnerables a desarrollar un trastorno por consumo de cocaína, nos facilitaría la realización de campañas de prevención más eficaces dirigidas a la población con mayor riesgo en mostrar este uso compulsivo de la droga.

Las personas con niveles más bajos de auto-control, lo cual puede ser reflejo de deficiencias en los mecanismos inhibitorios del

cerebro principalmente de origen dopaminérgico, presentan una mayor predisposición a desarrollar este consumo compulsivo de la droga (Herrero y cols., 2008; Dolan y cols., 2008). La inhibición pre-pulso (IPP) del reflejo de sobresalto es una medida operacional de filtrado y sincronización sensorio-motriz, que se utiliza tanto en humanos como en animales para detectar alteraciones del sistema dopaminérgico cerebral. De hecho, la detección de déficits dopaminérgicos causados por el consumo de fármacos y sustancias de abuso, principalmente psicoestimulantes, es su uso más extendido. Más recientemente, un estudio ha demostrado la capacidad de la IPP para predecir los animales con mayor vulnerabilidad a desarrollar sensibilidad a los efectos motores de los psicoestimulantes como es la anfetamina (Peleg-Raibstein y cols., 2013).

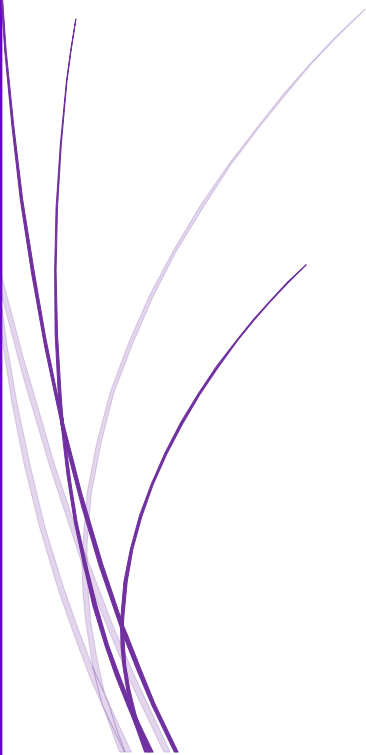
En este sentido la presente tesis pretende demostrar que la respuesta en la IPP es un marcador psicofisiológico útil en la detección de la población con mayor vulnerabilidad a desarrollar un consumo compulsivo de la cocaína, y por tanto, a mostrar un trastorno por uso de sustancias. Con este objetivo, en primer lugar, nuestro primer propósito ha sido evaluar la capacidad de la IPP para detectar los ratones más sensibles a los efectos de la cocaína, concretamente a establecer una asociación entre las claves del ambiente y las propiedades reforzantes de la droga en el paradigma del Condicionamiento de Preferencia del Lugar (CPL). Estudios previos en nuestro laboratorio han demostrado que este paradigma representa un medio útil para identificar aquellos sujetos de ambos sexos más vulnerables a los efectos reforzantes de la cocaína (Vidal-Infer y cols., 2012a; Arenas y cols., 2014; Mateos-García y cols., 2014). Así, hemos llevado a cabo varios experimentos donde ratones machos y hembras, previamente divididos según su respuesta en la IPP fuese mayor o menor, fueron evaluados en la adquisición, extinción y reinstauración del CPL inducido con diferentes dosis de cocaína. En segundo lugar, nuestro propósito ha sido determinar el perfil cognitivo-comportamental característico de los animales según mostraran una

mayor o menor IPP. De esta manera, hemos pretendido poder explicar las características y condiciones que hacen más vulnerables a unos sujetos frente a otros a desarrollar un uso compulsivo de drogas como la cocaína. Debemos tener en cuenta que los procesos de neuroplasticidad que determinan la asociación de los efectos reforzantes a las claves ambientales son muy importantes para entender el progreso a la dependencia de las drogas de abuso (Mori y cols., 2013). Así, hemos realizados varios experimentos donde se han evaluados las características comportamentales y cognitivas de los animales con una mayor o menor IPP.

Por último, comentar que aunque nuestra investigación tiene un carácter básico y se desarrolla con modelos animales, su traslación a la clínica puede ser inmediata, ya que la IPP es una prueba ya utilizada en la investigación neuropsiquiátrica humana en otros ámbitos clínicos (esquizofrenia, psicosis, trastorno obsesivo compulsivo), fácil de medir, objetiva en su cuantificación y no resulta invasiva. Por ello, los resultados obtenidos supondrán un importante avance en el ámbito de la prevención de los trastornos por uso de sustancias.



COCAÍNA



2. Cocaína.

La cocaína es un alcaloide natural que se extrae de la hoja de coca, es una planta originaria de Sudamérica, la cual es usada por los indígenas de los Andes para inhibir el hambre, la sed y el cansancio (Balcells-Oliveró, 2001). Según el Instituto Nacional de las Drogas de Abuso (NIDA por sus siglas en inglés: *National Institute of Drug Abuse*), la cocaína se considera un potente estimulante adictivo que afecta directamente el cerebro, fue denominada la droga de los 80 y los 90 por su gran popularidad y uso durante este periodo, sin embargo, no es una droga nueva. De hecho, es una de las sustancias psicoactivas más antiguas conocidas hasta el momento. Las hojas de la coca, origen de la cocaína, se mastican e ingieren desde hace miles de años, y la sustancia química purificada, el hidrocloreuro de cocaína, ha sido una sustancia de abuso durante más de 100 años. Por ejemplo, a principios de 1900 la cocaína purificada fue el principal ingrediente activo en la mayoría de tónicos y elixires desarrollados para tratar una gran variedad de enfermedades.

Originariamente la cocaína pura se extraía de la hoja del arbusto de la coca, el *Erythroxylon coca*, que crecía principalmente en Perú y en Bolivia, aunque la planta es endógena de Sudamérica, Méjico, Indonesia y de las Indias Occidentales. Los pueblos de las civilizaciones antiguas utilizaban las hojas de la coca con fines religiosos y ceremoniales, e incluso estas civilizaciones utilizaban una mezcla de hojas de coca y saliva como anestésico local para cirugías en rituales. Después de los años 90 y de los grandes esfuerzos por reducir los cultivos en esos países, Colombia se convirtió en la nación con mayor cosecha de coca. Hoy en día, la



Cocaína

cocaína se considera una droga psicoanalépticas de la lista II de la legislación de Estados Unidos, lo cual significa que es una droga con un alto potencial para el abuso, de hecho es una droga altamente adictiva debido a su corta vida biológica y sus fuertes propiedades reforzantes que pueden conducir a un consumo compulsivo (Cadet y cols., 2014). Por otro lado, se utiliza también como anestésico local para ciertas cirugías oculares, auditivas y laríngeas (Volkow, 2010).

La cocaína se vende en la calle generalmente como polvo fino, blanco, cristalino y como “coca”, “C”, “la nieve”, “tiro” o “farlopa”. Los traficantes callejeros generalmente lo diluyen con sustancias inertes como la maicena, el polvo de talco o el azúcar, o con medicinas activas como la procaína (anestésico local) o la anfetamina (otro estimulante). Algunos consumidores combinan la cocaína con la heroína, comúnmente denominado *speedball*.

Hay dos formas químicas de la cocaína que suelen consumirse: la sal de clorhidrato (que es soluble en agua) y los cristales de cocaína o base, conocida en inglés como *freebase* (que no son solubles en agua). La sal de clorhidrato, o la forma en polvo de la cocaína, se consume de forma inyectada o inhalada (*snorting*). Los cristales de cocaína o *free base* han sido procesados con amoníaco o bicarbonato sódico y agua y luego calentados para eliminar el clorhidrato y producir una sustancia que se puede fumar. El término *crack*, el nombre de la calle para los cristales o base de cocaína, se refiere al sonido crujiente que se oye al fumar esta mezcla.



Polvo de cocaína



Cristales de cocaína o base

El término «consumo de drogas» aborda un gran número de pautas, que pueden distribuirse en un continuo que va desde el consumo experimental aislado hasta el consumo dependiente. Las diferentes pautas de consumo se asocian a diferentes niveles de riesgo y de daños. En términos generales, los riesgos a los que se expone una persona que consume drogas dependen de factores como el contexto de consumo, la dosis consumida, la vía de administración, el consumo de otras sustancias, el número y la duración de los episodios de consumo y la vulnerabilidad individual (EMCDDA, 2014; 2015).

El mercado actual de las drogas resulta mucho más fluido y dinámico que antes. Varios factores parecen ser los causantes de este dinamismo: la reaparición de viejos problemas como el desempleo juvenil o los recortes de los servicios, la globalización y los avances en la tecnología de la información (Internet), así como la aparición de nuevas drogas sintéticas y pautas de consumo. Con el uso de Internet, aparecen vías de difusión más rápidas y de fácil alcance de las nuevas tendencias; creándose así una fuerte y amplia conexión entre la oferta y el consumo (EMCDDA, 2014; 2015).

Centrándonos en la cocaína, la EMCDDA (2014; 2015) considera esta sustancia como la segunda droga ilegal más consumida en Europa después del cannabis. Se obtiene casi en su totalidad de Bolivia, Colombia y Perú y se traslada a Europa mediante vía aérea o marítima. Su principal ruta de envío a Europa pasa por España y Portugal, y cada vez más, por los puertos de Bélgica, los Países Bajos y en general, por Europa occidental. La mayoría de los consumidores, el 90%, se concentran en un número restringido de países como son Alemania, España, Italia, Países Bajos y Reino Unido. En conjunto estos cinco países representan algo más de la mitad de la población de la UE. Se estima que unos 2,2 millones de adultos jóvenes de 15 a 34 años (el 1,7 % de este grupo de edad) consumieron cocaína el año 2013. A nivel mundial, la Oficina de las Naciones Unidas Contra las Drogas y el Delito (UNODC, del inglés *United Nations Office on*

Drugs y Crime) estima una prevalencia anual de consumo de cocaína entre el 0.3 y el 0.5% de la población mundial con edades comprendidas entre 15 y 64, o sobre el 14.2 y el 20.5 millones de personas en dicho rango de edad (WHO, 2014).

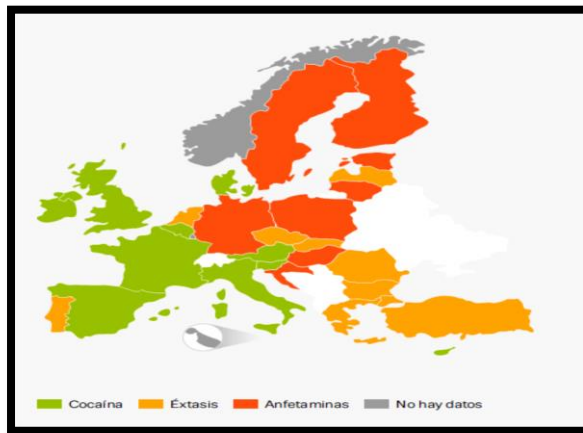


Gráfico1. Drogas estimulantes predominantes agrupadas por la prevalencia en el año 2013 del consumo entre adultos jóvenes (de 15 a 34 años). Datos obtenidos del Informe Europeo sobre Drogas del 2014 (EMCDDA14).

Aunque el inicio en el consumo de otras drogas es más pronto, la edad media en el inicio del consumo de cocaína se sitúa alrededor de los 22 años, pero hasta los 34 años no acuden a tratamiento debido al trastorno por abuso de sustancias. El último informe presentado por el EMCDDA (2015) considera la cocaína como la droga estimulante ilegal más consumida en Europa, por lo tanto, su consumo actual tiene una gran prevalencia; existen 14,1 millones de personas que la han consumido alguna vez en su vida; y además, dicho informe señala que España tiene índices de consumo de cocaína similares a los Estados Unidos, país de mayor prevalencia en consumo del mundo, aunque el consumo medio de cocaína en Europa esté muy por debajo (EMCDDA, 2015).

2.1. Mecanismo de acción.

La cocaína tiene 2 acciones farmacológicas básicas, como estimulante del sistema nervioso central, a través del sistema simpático, y como anestésico. Como anestésico local, la cocaína bloquea los canales de sodio en la membrana neuronal, inhibiendo la despolarización y bloqueando tanto la iniciación como la conducción de los impulsos nerviosos (Catterall y Mackie, 2006; Goldstein y cols., 2009; Pereira y cols., 2015). Además, interfiere en la recaptación de neurotransmisores en las terminales nerviosas como la adrenalina y la noradrenalina, por lo que la persistencia de éstos en la hendidura sináptica justificaría los exagerados efectos simpaticomiméticos (Hollander y Hoffman., 1998). En el sistema mesolímbico, la cocaína provoca un aumento de los niveles de dopamina (DA) en la hendidura sináptica, lo que explica la respuesta eufórica a la droga (Franco y cols., 2004).

La cocaína produce una gran toxicidad tanto en el Sistema Nervioso Central (SNC) como en el Sistema Cardiovascular (Pereira y cols., 2015). A través de estos dos sistemas, la cocaína y algunos de sus metabolitos ejercen su actividad en varios receptores. En el SNC, la cocaína bloquea la recaptación de catecolaminas (dopamina, norepinefrina) y la serotonina (Shanti y Lucas, 2003; Hoffman, 2006). El incremento de la actividad serotoninérgica puede producir problemas cardíacos y parece estar implicado también en la adicción y el efecto de la recompensa de la cocaína (O'Dell y cols., 2000; Lason, 2001; Knuepfer, 2003; Shanti y Lucas, 2003). Sin embargo, el exceso de actividad dopaminérgica parece ser el causante de gran parte de los síntomas producidos en el SNC, tanto el deseo como los efectos tóxicos producido por la droga (Goldstein y cols., 2009). Los síntomas en el SNC con dosis altas incluyen euforia, aumento de la autoestima y alerta. El consumo repetitivo de cocaína conlleva a una reducción de la disponibilidad de la DA. Esto puede resultar tanto en un intenso deseo compulsivo o *craving* por la cocaína como en el desarrollo del

síndrome de abstinencia (Shanti y Lucas, 2003; Hoffman, 2006). Los pacientes con dicho síndrome muestran síntomas como letargia, anhedonia y tienen dificultades para mover la musculatura (Hoffman, 2006). Así mismo, la cocaína también afecta a la regulación corporal de la temperatura a través del hipotálamo y puede causar hipertermia (Knuepfer, 2003). Los efectos excitatorios ejercidos por la cocaína en los sistemas de aminoácidos/glutamatérgicos y muscarínicos así como en los receptores sigma (opioides) parecen contribuir también a la toxicidad ocasionada en el SNC (Lason, 2001; Knuepfer, 2003; Shanti y Lucas, 2003).

En cuanto a la toxicidad producida en el sistema cardiovascular, la cocaína inhibe la recaptación de las aminas biogénas, lo cual produce un efecto simpaticomimético intenso. Al igual que las drogas que bloquean los canales de sodio, la cocaína se clasifica como un agente antidisrítico de tipo I (Shanti y Lucas, 2003; Hoffman, 2006) y como consecuencia pueden aparecer arritmias tras su consumo. Así mismo, la cocaína puede producir vasoconstricción, lo cual facilita la aparición de la hipertensión, de los accidentes cerebrovasculares, de las isquemias cardíacas e infartos en los tejidos. Existen varios mecanismos y mediadores responsables de la vasoconstricción producida por la cocaína: el incremento de la norepinefrina neuronal, un efecto directo de la benzoilecgonina en los vasos sanguíneos (mediado por el calcio), incremento de los niveles de endotelina-1 (un poderoso vasoconstrictor), y una reducción de la producción de óxido nítrico (un vasodilatador) (Tella y cols., 1993; McCord y cols., 2008).

Debido a dicha toxicidad producida por la cocaína, no existe ninguna manera segura de consumir cocaína (Pereira y cols., 2015). Cualquier ruta de administración puede inducir a la absorción de cantidades tóxicas de cocaína, causando algún tipo de emergencia debido a un accidente cerebrovascular o cardiovascular que pueda resultar en una muerte repentina. De hecho, el consumo repetido de cocaína a través de cualquier ruta de administración puede producir

adicción y otras consecuencias adversas para la salud (Reyes-Montaño y Reyes-Guzmán, 2012).

Los efectos agudos descritos de esta droga incluyen, una intensa euforia, un incremento de la energía y de la alerta o vigilancia debido al aumento de los niveles sinápticos de DA producido por la cocaína al inhibir su transportador (Ritz y cols., 1987; Cadet y cols., 2014). En cambio, la sobredosis de cocaína provoca convulsiones, ataques epilépticos, dolores intensos de cabeza y embolias (Nnadi y cols., 2005). La adicción a la cocaína cambia la sensibilidad del cerebro a varios neurotransmisores e implica cambios persistentes celulares y moleculares del SNC. Los sistemas dopaminérgico, gabaérgico (GABA) y glutamatérgico contribuyen en la neuroadaptación inducida por esta droga; el consumo continuo de cocaína produce cambios fisiológicos en las vías de los receptores de glutamato (GLU), de la DA y del GABA. Estos cambios químicos causan diferentes efectos en los consumidores, los cuales incluyen ansiedad, confusión, vértigo, psicosis, dolor de cabeza y náuseas (Reyes-Montaño y Reyes-Guzmán, 2012). De hecho, los efectos a largo plazo producidos por la adicción a la cocaína incluyen ansiedad, depresión, deseo o ansia por la droga e hipersomnolencia (Warner, 1993; Cadet y cols., 2014). El consumo de cocaína también se acompaña de secuelas neuropsiquiátricas (Nnadi y cols., 2005) e incluyen deficiencias en varios dominios cognitivos incluyendo las funciones ejecutivas, la toma de decisiones, la impulsividad, la visuopercepción, la velocidad psicomotriz, la destreza manual, el aprendizaje verbal y la memoria (Nnadi y cols., 2005). Estos déficits cognitivos causados por el consumo de cocaína probablemente están relacionados con disfunciones en el lóbulo prefrontal (Goldstein y cols., 2004); pacientes de neurología que sufrieron daños en esta zona del cerebro mostraron problemas cognitivos similares (Bechara y cols., 1994). Otras manifestaciones neurológicas producidas por el abuso de la cocaína incluyen trastornos del movimiento debidos probablemente a

una transmisión dopaminérgica nigroestriatal deficiente (Cardoso y Jankovic, 1993).

Como afirman Reyes-Montaño y Reyes-Guzmán (2012), la cocaína es una de las drogas más adictivas y esto se debe al uso de las vías dopaminérgicas del accumbens en el mesencéfalo, desde el área tegmental ventral (ATV) al núcleo accumbens (NAcc). Dicha vía se activa cuando los sujetos tienen una experiencia placentera tal como comer, tener sexo o recibir elogios y se conoce como el área del cerebro del refuerzo o vía del refuerzo. La cocaína dificulta el mecanismo de control dopaminérgico: bloqueando el transportador de la DA y como resultado las moléculas que debían ser recaptadas permanecen en acción, aumentando y sobre-activando las células receptoras. Por tanto, parece claro que el aumento de la transmisión dopaminérgica de las neuronas que proyectan desde el mesencéfalo ventral al prosencéfalo (cerebro anterior), incluyendo el córtex prefrontal medial (CPFm) y el NAcc, es el objetivo farmacológico del refuerzo y de la estimulación locomotriz producida por la cocaína (O'Brien, 2001).

Sin embargo, la persistencia de las características conductuales de la adicción a la cocaína, como la paranoia, la sensibilización y la recaída después de meses y años de haber consumido, indica que también deben haber sustratos neuronales que sufren cambios neuroplásticos a largo plazo (Reyes-Montaño y Reyes-Guzmán, 2012). Por tanto, la adicción puede ser vista como una forma de plasticidad neural inducida por la droga. En la neurobiología de la adicción a la cocaína está la DA que modula la actividad de las células nerviosas en el cerebro para incentivar y dirigir nuestra conducta hacia nuestras necesidades y objetivos (Nestler, 2005). Los sistemas sobre los que actúa la cocaína en el cerebro se muestran en la Figura.1:

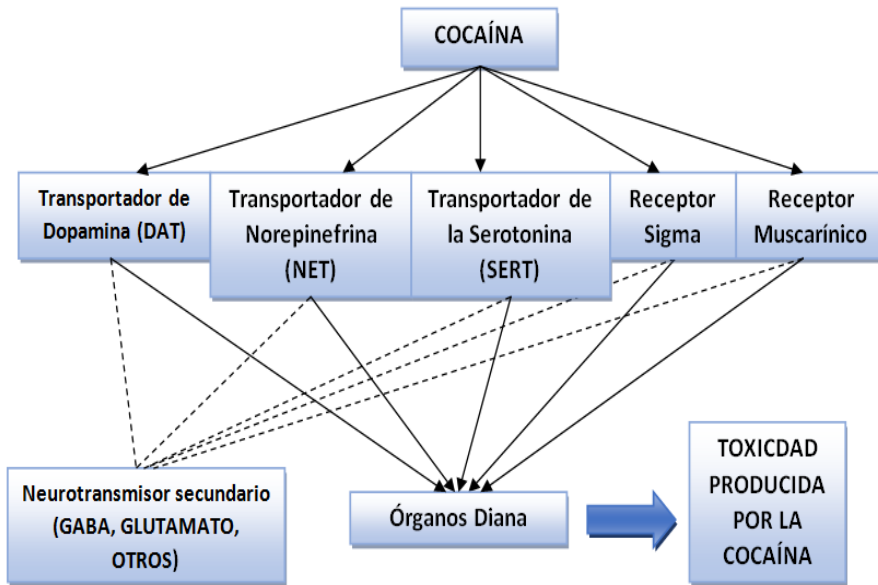


Figura 1. Mecanismos de acción de la cocaína. Las líneas continuas muestran los principales órganos afectados; las líneas discontinuas representan los segundos neurotransmisores asociados (Adaptado de Nestler, 2005).

Los efectos comportamentales asociados al consumo de la cocaína parecen estar mediados tanto por la familia de los receptores D1 como la de los D2. Los receptores D2 regulan el incremento extracelular de las concentraciones de DA provocados por la cocaína (Rouge-Pont y cols., 2002). El fármaco raclopride, un antagonista de los receptores D2 y D3, bloquea los efectos estimulantes y locomotores producidos por la cocaína en ratones (Chausmer y cols., 2002). A principios de los 90, varios estudios concluyeron que los receptores de D3 modulaban la respuesta a los psicoestimulantes al inhibir los efectos cooperativos postsinápticos de la familia de los receptores D1 y D2, ya que observaron que los ratones KO de los receptores D1 mostraban una atenuación de la respuesta locomotora después de la administración aguda o repetida de cocaína (Xu y cols.,

1994, 2000; Xu, 1998). Estudios más recientes han mostrado como tanto los receptores D1 como los D3 median en la estimulación locomotora y los efectos reforzantes producidos por la cocaína así como la reinstauración de la búsqueda de la cocaína inducida por señales contextuales (Li y cols., 2009; Chen y Xu, 2010; Yan y cols., 2013; 2014). Igualmente, tanto después de un tratamiento agudo como de un tratamiento crónico de cocaína, se produce la activación de los receptores D1 (Zhang y cols., 2004). Por tanto, con los resultados de estos estudios, podemos concluir que los tres receptores dopaminérgicos mencionados (D1, D2 y D3) regulan los efectos comportamentales inducidos por la cocaína.

2.2. La Patología Dual en consumidores de cocaína.

El consumo de cocaína conlleva graves problemas a nivel económico y sanitario, problemas cardiovasculares, neurológicos y mentales y un elevado riesgo de dependencia y patología dual. La patología dual (PD) se define como la existencia al mismo tiempo de un Trastorno por el uso de sustancias (TUS) y un Trastorno mental (TM) en un individuo dentro de un periodo concreto (Volkow, 2007). La definición del DSM-5 de TUS reza: *“Se utiliza la expresión más neutra **trastorno por consumo de sustancias** para describir el amplio abanico de un trastorno, desde un estado leve a uno grave de consumo compulsivo y continuamente recidivante. Algunos clínicos preferirán utilizar la palabra adicción para describir las presentaciones más extremas, pero esta palabra se ha omitido de la terminología oficial del diagnóstico de consumo de sustancias del DSM-5 a causa de su definición incierta y su posible connotación negativa”* (DSM V, 2013 p.257). Así mismo, el “Diagnóstico Dual” no constituye un término reconocido oficialmente en la nomenclatura del DSM o de la CIE. En un sentido amplio, se refiere a los pacientes con síntomas que se ajustan a los criterios de dos trastornos psiquiátricos diferentes. Este hecho y los constantes cambios en los criterios utilizados a lo largo del tiempo contribuyen a dificultar las tareas

diagnósticas (Torrens, 2008). No obstante el término de patología dual se utiliza indistintamente de forma coloquial con los términos: diagnóstico dual, trastorno comórbido o concurrente, o comorbilidad psiquiátrica (Haro y cols., 2010). La evolución de los conceptos y criterios diagnósticos entre el consumo de drogas y la presencia de otros síntomas psiquiátricos concomitantes es evidente. El DSM distingue: “*trastornos primarios*” (*trastornos mentales que no son relacionados por el consumo de sustancias ni debidos a una enfermedad médica*), “*efectos esperados*” (*síntomas considerados habituales que aparecen como consecuencia del consumo o la abstinencia de una sustancia*) o “*trastornos inducidos por sustancias*” (*cuando los síntomas son considerados como excesivos en relación con los que suelen aparecer en los síndromes de intoxicación por o abstinencia a una sustancia*) (Torrens, 2008). Sin embargo, debemos tener en cuenta que el citado manual incluye 11 clases de sustancias psicoactivas y 13 grupos de trastornos mentales etiológicamente primarios, lo cual conlleva a un gran número de posibles diagnósticos duales y por tanto a una complicación del fenómeno de la patología dual (Haro y cols., 2010).

La prevalencia de PD se ha descrito en grandes muestras procedentes de población general (Regier y cols., 1990; Kessler y cols., 2005; Compton y cols., 2007), así como en las redes asistenciales de drogas y salud mental (Ross y cols., 1988; Weaver y cols., 2003; Chan y cols., 2008; Rush y Koegl, 2008; Torrens y cols., 2011). Así, la prevalencia del TM se ha cifrado sobre un 65-85% de los adictos en tratamiento (Ross y cols., 1988; Weaver y cols., 2003; Chan y cols., 2008) y entre pacientes psiquiátricos un 45% de TUS (Weaver y cols., 2003; Arias y cols., 2013).

La comorbilidad es habitual, como muestran importantes estudios epidemiológicos en población general (Regier y cols., 1990; Kessler y cols., 2005; Compton y cols., 2007), así como en muestras clínicas (Weaver y cols., 2003; Chan y cols., 2008). Un 73,4% de los

adictos a la cocaína tienen un diagnóstico dual y está asociada a una mayor gravedad del problema, una mayor discapacidad para el sujeto y un peor curso en su evolución. A estos datos hay que añadir que los pacientes duales presentan un inicio más temprano en el consumo de cocaína que los policonsumidores sin patología psiquiátrica asociada y que los consumidores de cocaína inician más pronto el consumo de otras drogas (Arias y cols., 2013). Dicha comorbilidad se asocia con fenotipos distintos, un mayor uso de servicios sanitarios, mayor gravedad del cuadro, mayor discapacidad funcional y un peor curso evolutivo (Burns y Teesom, 2002; Weaver y cols., 2003; O'Brien y cols., 2004). Los mecanismos que explican esta comorbilidad son complejos debido a la intervención tanto de factores neurobiológicos, genéticos y ambientales que se añaden en la patogenia de estos trastornos (Volkow, 2004; 2007; Arias y cols., 2013). Los trastornos más predominantes en personas adictas a la cocaína son los trastornos del estado de ánimo y de ansiedad, en concreto la agorafobia; y es el trastorno antisocial, el más prevalente en un estudio reciente realizado por Arias y cols., (2013) en la Comunidad de Madrid. Sin embargo, son necesarios más estudios para conocer la prevalencia que tiene el diagnóstico dual en España y las características de aquellos sujetos que la padecen para optimizar el tratamiento futuro.

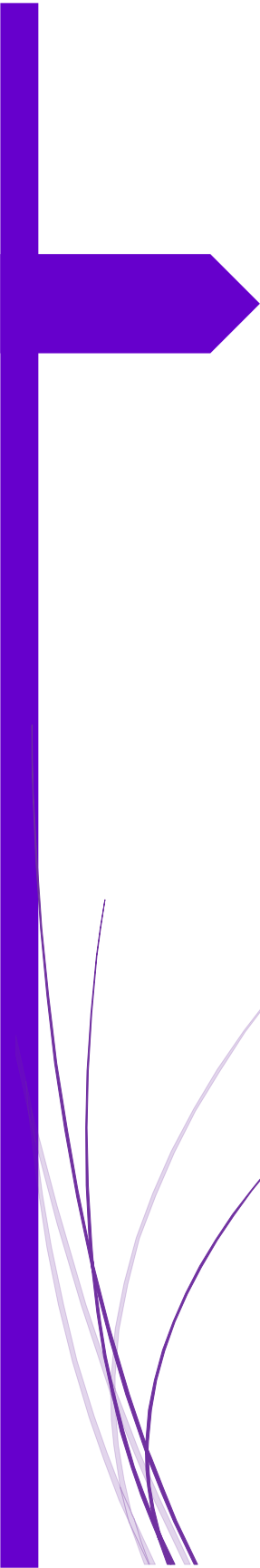
Una gran cantidad de estudios han mostrado, tanto en la población general como en la clínica, la asociación del consumo de cocaína con una extensa variedad de trastornos mentales (Regier y cols., 1990; Rounsaville y cols., 1991; Weaver y cols., 2003; Grant y cols., 2004a; Herrero y cols., 2007; Herrero y cols., 2008; Tortajada y cols., 2012; Vergara-Moragues y cols., 2012; Arias y cols., 2013; Araos y cols., 2014). Siendo los de más prevalencia los trastornos de personalidad, los depresivos y de ansiedad (Rounsaville y cols., 1991; Thomasius y cols., 2010; Herrero y cols., 2011)

Los resultados del estudio de Arias y cols. (2013) sobre la prevalencia de patología dual y abuso o dependencia a la cocaína de la

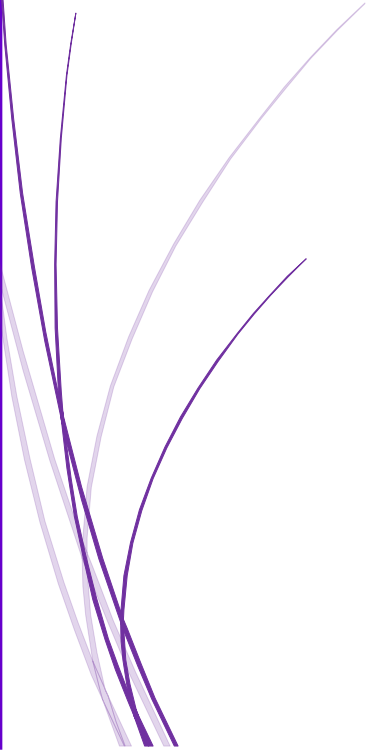
población de Madrid reveló que alrededor de 3 de cada 4 adictos a la cocaína de la muestra tenían un TM actual, incluyendo los trastornos de la personalidad. En el estudio piloto realizado por este mismo grupo (Szerman y cols., 2011), se observó que casi la mitad de los adictos a cocaína tenían un diagnóstico dual en función de la información obtenida de la historia clínica. Y cuando se mejoraba la metodología mediante el uso de una entrevista estructurada, observaron que los adictos a la cocaína en tratamiento presentan en su mayoría algún diagnóstico en el eje I mediante la entrevista MINI y/o un diagnóstico del trastorno de la personalidad. Como bien indican estos autores, esta elevada comorbilidad en personas adictas a la cocaína en fase de tratamiento coincide con los resultados de otros estudios (Lubman y cols., 2007; Chan y cols., 2008; Chen y cols., 2011), también con la prevalencia de los trastornos del ánimo y de ansiedad (Lubman y cols., 2007; Thomasius y cols., 2010; Herrero y cols., 2011) y con algún diagnóstico de trastorno de la personalidad (Regier y cols., 1990; Weaver y cols., 2003) como el trastorno paranoide, depresivo, antisocial, límite y/o evitativo.

En cuanto a los TUS, los resultados del estudio del *National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions* (NESARC) mostraron la misma asociación con los trastornos de la personalidad, del estado de ánimo y de ansiedad (Grant y cols., 2004a; Grant y cols., 2004b; Stinson y cols., 2005; Hasin y cols., 2007) y una vez más en el estudio *Epidemiologic Catchment Area* (ECA) encontraron esta asociación con la dependencia de la cocaína (Regier y cols., 1990). Siendo un continuo dicha comorbilidad en la historia de los estudios al respecto (Ross y cols., 1988; Rounsaville y cols., 1991). Concretamente se ha encontrado un 42,5% de diagnósticos duales entre adictos a la cocaína, destacando los trastornos del estado de ánimo, en un 26,6%, y de la ansiedad en un 13% de la muestra (Herrero y cols., 2011).

Todo esto nos induce a la reflexión de considerar que puede existir una relación estrecha entre el consumo de cocaína y algunos trastornos mentales, y nos sugiere si sería posible la predicción de esta asociación cruzada. Debemos tener presente que la adicción a la cocaína se caracteriza por una persistente y alta susceptibilidad a la recaída, y hasta el momento, no existe ninguna terapia ni psicológica ni farmacológica eficaz para el tratamiento de la dependencia a la cocaína; por ello, la prevención del consumo de drogas se considera un reto social prioritario en la lucha contra la adicción. Así, la obtención de marcadores psicofisiológicos indicativos de una vulnerabilidad a la asociación cruzada entre un trastorno por consumo de cocaína y otras patologías neuropsiquiátricas nos posibilitaría realizar campañas de prevención más eficaces y dirigidas a la población de mayor riesgo.



**INHIBICIÓN
PRE-PULSO DEL
REFLEJO DE
SOBRESALTO A
UN ESTÍMULO
ACÚSTICO (IPP)**



3. Inhibición pre-pulso de reflejo de sobresalto a un estímulo acústico (IPP).

La inhibición pre-pulso (IPP) es la supresión o reducción del reflejo de sobresalto que ocurre cuando un estímulo intenso es precedido por un estímulo más débil conocido como “pre-pulso” (Swerdlow, 2013). Esta técnica se considera uno de los índices neurofisiológicos más prometedores de la investigación traslacional en psiquiatría (Takahashi y cols., 2011). Se reconoce generalmente como una medida operacional simple de filtrado y sincronización sensorio-motriz (Li y cols., 2009), la cual tiene la capacidad de filtrar la información extra y focalizar aquella que es relevante (Swerdlow y cols., 2008). En consecuencia, se considera un proceso pre-atencional adaptativo para el sujeto, ya que le aleja de una sobrecarga estimular.

Se fundamenta en la respuesta del reflejo de sobresalto (RRS), la cual se define como una respuesta no condicionada que se produce de forma espontánea en un gran número de especies animales después de la exposición a un estímulo de elevada intensidad y en cualquier modalidad sensorial, y que conduce a una contracción ordenada de músculos esqueléticos y faciales (respuesta de sobresalto o RS), por tanto es un reflejo motor que se procesa en el tronco encéfalo. Sin embargo, la IPP al tratarse de un mecanismo inhibitorio de control/regulador, se origina en el córtex cerebral, por lo que se utiliza como índice de estudio para evaluar la función de estructuras complejas (García-Sánchez y cols., 2011). Además se considera particularmente útil como medida conductual, ya que este fenómeno se ha observado a través de un gran número de especies (Swerdlow y cols., 2001; Li y cols., 2009).

El pre-pulso interviene como barrera inhibitoria disminuyendo la respuesta del estímulo posterior, por tanto no produce la respuesta de sobresalto. Es un proceso pre-atencional, no está vinculado al aprendizaje ni depende de experiencias previas, sino que es constante en el tiempo y su detección es automatizada, presentándose de manera

análoga tanto en roedores como en humanos (García-Sánchez y cols., 2011). Por todo esto, la IPP se evalúa de forma similar tanto en humanos como en roedores, siendo el estímulo auditivo el más usado en la mayoría de los estudios. En humanos se mide el componente ocular del reflejo de la respuesta de sobresalto mediante el registro electromiográfico del músculo orbicular. Y en ratones, se evalúa la respuesta motora esquelética del cuerpo ante un estímulo auditivo; sin embargo, ambas evaluaciones tienen propiedades similares (Valsamis y Schmid, 2011).

Por otra parte, el reflejo de sobresalto puede modularse además de por un estímulo débil previo, por los estados afectivos del sujeto. Los estados afectivos negativos pueden incrementar tanto el reflejo de sobresalto como la IPP, mientras que los estados afectivos positivos también incrementan la IPP pero disminuyen el reflejo de sobresalto (De la Casa y cols., 2014). Por tanto, los estados afectivos mostrarían una correlación negativa con la intensidad de la respuesta en el reflejo de sobresalto, mientras que los incrementos en la IPP parecen ser más bien debidos al resultado de los cambios en el arousal, el cual activa los procesos atencionales (McConnell y Shore, 2011; de Oca y cols., 2012; De la Casa y cols., 2014). El incremento en el arousal estaría producido por un aumento de las concentraciones dopaminérgicas debidas a un estado atencional activado (p.ej. Ashby y cols., 1999; Nieoullon, 2002), ya sea por una información placentera (Mak y cols., 2009) como aversiva (p.ej. Young y cols., 1993) y no tanto por los estados afectivos *per se*.

3.1. Historia de la IPP.

Sechenov describió por primera vez el reflejo de sobresalto en 1863, aunque Peak en 1939 fue quien demostró la modulación del reflejo inhibitorio en el sistema auditivo. Hoffman y Searle observaron en 1965 como la respuesta de sobresalto disminuía hasta desaparecer al ser precedida por un sonido o pulso, cuando se presentaba entre 20

y 500 ms antes del inicio del estímulo de sobresalto. Finalmente, el término inhibición pre-pulso (IPP) fue propuesto por Ison y Hammond en 1971 (Fendt y cols., 2001).

La investigación sobre la IPP ha crecido notablemente en últimas décadas, debido a que aporta un método valioso para investigar los principios de la modulación del reflejo, como mecanismo de filtración sensitivo-motor, y porque su déficit se asocia con varios trastornos psiquiátricos (Fendt y cols., 2001; Swerdlow, 2013). Parece ser que el pre-pulso expresa la función del sistema de atención sensorial, donde ejerce una influencia inhibitoria hasta que se procesa totalmente, protegiendo al organismo contra una sobrecarga de información sensorial (Buckland y cols., 1969). Los estudios de la IPP traslacionales, a través de las especies, así como la optimización del valor e información de esta medida neurobiológica, han incrementado en un asombroso ritmo desde mediados de la década de 1970 (ver Figura. 2).

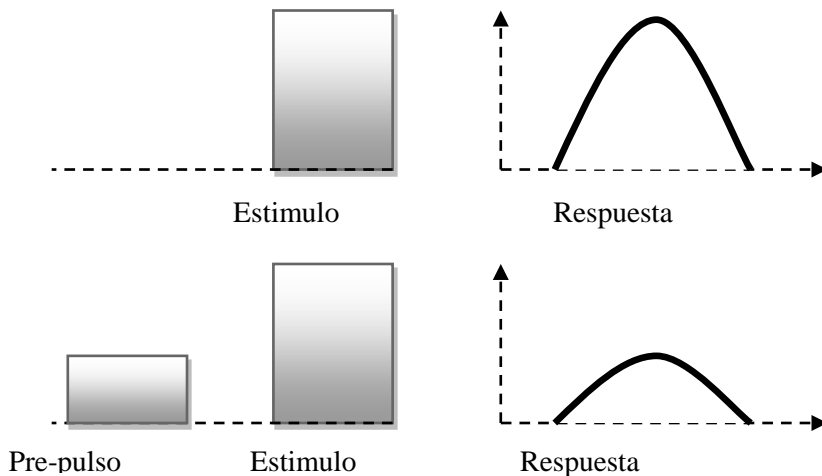


Figura 2. Inhibición pre-pulso de la respuesta de sobresalto (Adaptado de Graham, 1975).

Históricamente, el concepto por el cual se entendía que el procesamiento de la información se realizaba en forma de secuencias o etapas en un entorno de procesamiento secuencial de estímulos informativos, fue la base de las primeras teorías explicativas del fenómeno de la IPP. Se contempló la posibilidad de que esta secuencialización podría ocurrir de forma progresiva "superior" en el SNC donde las operaciones son organizadas jerárquicamente. Las anomalías del procesamiento de la información fueron concebidas como aquellas que ocurren en las diferentes etapas, lo que resulta en disfunción y desregulación en todo el espectro de las operaciones cognitivas y comportamientos asociados (Braff y cols. 1991). Un ejemplo son los pacientes con psicosis, a los cuales se les consideraba que tenían déficits en etapas tempranas del procesamiento de la información (p.ej. el registro sensorial y el procesamiento temprano). Y estos déficits en el procesamiento inducían a otra cascada "flujo de datos" de déficits en la integración cognitiva, la cual producía los síntomas clínicos y los daños funcionales (para más información ver: Venables, 1960; Braff, 1985, 1993, 1999; Braff y Geyer 1990; Braff y cols., 2001).

Progresivamente se fue cambiando a una nueva generación alternativa de modelos más "integracionistas" que los modelos "estado" anteriores. Estos nuevos modelos se basan en la teoría de la red neural, la cual afirma que las cascadas de neuronas crean una unificación de eventos coordinados en el tiempo a través de múltiples sitios, como una sinfonía ordenada (Braff, 1999). Por tanto, se consideró que este circuito neural estaba dañado en pacientes diagnosticados de esquizofrenia y con otros tipos de trastornos (Swerdlow y Koob, 1987; Andreasen, 1999; McGlashan y Hoffman, 2000).

En 1975, Graham supuso que la IPP era un proceso totalmente automático; pero la visión general hoy en día sobre la IPP es que ésta depende en gran parte del diseño experimental y de las instrucciones

dadas (Kohl y cols., 2013). La IPP se fundamenta en mecanismos principalmente automáticos (pre-atencionales) en intervalos cortos (<60 ms) (Dawson y cols., 1993). Así mismo, utilizando un mayor intervalo entre los estímulos (ITI; 120-240 ms) en parámetros experimentales, la modulación atencional de la IPP es posible instruyendo a los sujetos para focalizar o ignorar el pre-pulso solamente, o tanto el pulso como el pre-pulso (Swerdlow y cols., 2001; Heekeren y cols., 2004; Kohl y cols., 2013). De ahí la importancia en la unificación de la metodología utilizada.

3.2. Modelo animal de la IPP.

Como ocurre con los humanos, los ratones y las ratas normalmente muestran una respuesta de sobresalto a un ruido fuerte. De hecho, si un ruido moderado se presenta precedido inmediatamente del ruido fuerte, la respuesta del reflejo de sobresalto (RRS) disminuye significativamente en ratones y ratas, tanto como en humanos. Este fenómeno, como ya hemos descrito anteriormente se conoce como "inhibición pre-pulso" (IPP), o "inhibición por un estímulo previo". Para evaluar la RRS y la IPP, los animales se colocan dentro de una caja de ensayos insonorizada con un ruido de fondo leve de 65-70dB, y se deja al animal durante 5 minutos para que se habitúe sin molestarlo. La disminución de la RS ante un estímulo acústico (pulso) debida a la presentación de un sonido de menor intensidad o pre-pulso se cuantifica como inhibición pre-pulso (IPP). Cuando un pre-pulso o ruido auxiliar se produce 500ms antes del sonido principal, la RS disminuye, es decir, la IPP es mayor. En cambio, la RS aumenta (pre-pulso facilitador), cuando el pre-pulso o ruido auxiliar se produce a más de 500ms antes del sonido principal. En ratas y ratones la IPP puede utilizarse para evaluar el reflejo general del animal (sobresalto), y también sirve como una buena medida auditiva sensible y cuantitativa. Por ejemplo, un ratón normal muestra una IPP con un umbral de 70db, así como diferentes

respuestas cuantitativas a pre-pulsos variando solo unos dBs (Sweatt, 2009).

Los estudios hasta el momento han utilizado una gran variedad de intensidades de los pre-pulsos, a menudo mostrando efectos de los tratamientos en la IPP con determinadas intensidades pero no con otras. El pre-pulso de 85dB produce un máximo muy robusto de 90% de IPP, pero se recomienda utilizar un segundo pre-pulso de 75dB, el cual produce una IPP entre 50 y 60% solamente. De esta manera se puede aumentar o disminuir la IPP mediante la administración de sustancias (por ejemplo aumentar con 1mg/kg s.c. de nicotina o disminuir con 1mg/kg de anfetamina), siendo más vulnerable a manipulaciones genéticas y farmacológicas en general (Valsamis y Schmid, 2011). Al mismo tiempo se ha constatado que variando solamente los ITIs se puede influir en la IPP dependiendo del sistema de neurotransmisión afectado por un trastorno psiquiátrico, las drogas o las manipulaciones genéticas; siendo recomendable variar el ITI entre 30ms y 100ms (Valsamis y Schmid, 2011).

3.3. Bases neurales de la IPP.

La base neural de la IPP se centra en el circuito cortico-estriado-palido-talámico (CSPP), en el cual distinguimos tres partes diferenciadas, las estructuras que modulan la IPP, las que desencadenan la IPP y las que controlan la respuesta de sobresalto (Kohl y cols., 2013). El circuito empieza con la entrada de un input acústico en los núcleos cocleares [(núcleo coclear dorsal (NCD), raíz del núcleo coclear (NC) y núcleo coclear ventral (NCV)] que forman parte de la vía primaria auditiva. Solamente si una determinada intensidad del estímulo acústico excede un determinado nivel de dB (>80dB) la información pasa al núcleo tegmental ventro-lateral (NTVL) y al núcleo reticular pontino-caudal (PnC). El PnC es uno de los núcleos más bajos del tronco encéfalo y tiene varias proyecciones que van directamente a las neuronas motoras, hecho que le confiere

una notable implicación en el circuito primario del reflejo de sobresalto (RS). En último lugar, las neuronas motoras activan la respuesta motora, lo cual completa el circuito de la RS (Davis y cols., 1982; Kohl y cols., 2013).

Para Koch y Schnitzler (1997), el desencadenante de la IPP con un estímulo auditivo es el input excitatorio que se produce desde el circuito auditivo al colículo inferior (CI) del mesencéfalo. El CI, a su vez, activa el colículo superior (CS), cuyas proyecciones se dirigen hacia el núcleo tegmental pedúnculo-pontino (PPTg) que inhibe al núcleo reticular pontino-caudal (PnC). Y esta inhibición del PnC produce una regulación a la baja de la respuesta de sobresalto, lo que permite medir el efecto de la IPP (ver Figura 3). Varias líneas de investigación han demostrado la implicación del CI y el CS; el CI parece ser particularmente importante para la supresión del reflejo o respuesta de sobresalto provocado por el estímulo acústico. Sin embargo, el CS, se considera crucial en la unión de la información proveniente de diferentes modalidades sensoriales, hecho que explicaría la irrelevancia en la congruencia de la modalidad del pulso y el pre-pulso (Kohl y cols., 2013). De hecho, se ha demostrado que las lesiones tanto del CI (Leitner y Cohen, 1985) como del CS (Fendt y cols., 1994) atenúan el efecto de la IPP. En cambio, se ha sugerido que el PPTg podría ser aún más importante en la mediación de la IPP que los dos colículos, ya que cuando se bloquea la información de este núcleo total o parcialmente se observa una alteración de la respuesta de IPP (Swerdlow y Geyer, 1993a; Niu y cols., 2015). Además, Li y Yeomans (2000) demostraron que la estimulación del PPTg era suficiente para provocar la IPP. Sin embargo, todavía es un tema en debate ya que otros expertos no están de acuerdo con Li y Yeomans (Leumann y cols., 2001, Kohl y cols., 2013).

Se ha sugerido que una mala comunicación neural entre las estructuras límbicas y los ganglios basales puede ser la base de los déficits en la IPP (ver revisión: Swerdlow y cols., 1992), en concreto

IPP

el circuito córtico-estriado-pálido-pontino. De acuerdo con estos autores, el NAcc es crucial en la reducción de la IPP; y proponen el NAcc como parte primordial en la regulación de la IPP, así como las subregiones corticales y límbicas adyacentes al NAcc. También puede producir cambios en la IPP la manipulación del hipocampo, la amígdala basolateral (BLA), las disfunciones en la corteza prefrontal medial (CPFm) y la corteza orbito-frontal (COF) (ver figura 3). Se ha propuesto que la implicación del hipocampo en la disrupción de la IPP es a través de la vía el NAcc. Pero, recientes hallazgos de estudios anatómicos (Miller y cols., 2010) y funcionales (Sant Marie y cols., 2010) sugieren que las conexiones eferentes del hipocampo al CPFm son las responsables de la disrupción de la IPP producidas por el hipocampo (Kohl y cols., 2013).

En suma, diferentes áreas corticales y subcorticales tales como el COF, el NAcc, CPFm, el hipocampo, el ATV y la BLA afectan a la regulación de la IPP. De diferentes formas, la modulación de estas estructuras causa una disrupción o reducción de la IPP. El circuito del reflejo de sobresalto se desinhibe y la entrada sensorio-motriz se descompagina o desestabiliza. En tales casos se produce una respuesta de sobresalto fuerte aun cuando se presente el pre-pulso (Kohl y cols., 2013).

BASES NEURALES DE LA INHIBICIÓN PREPULSO

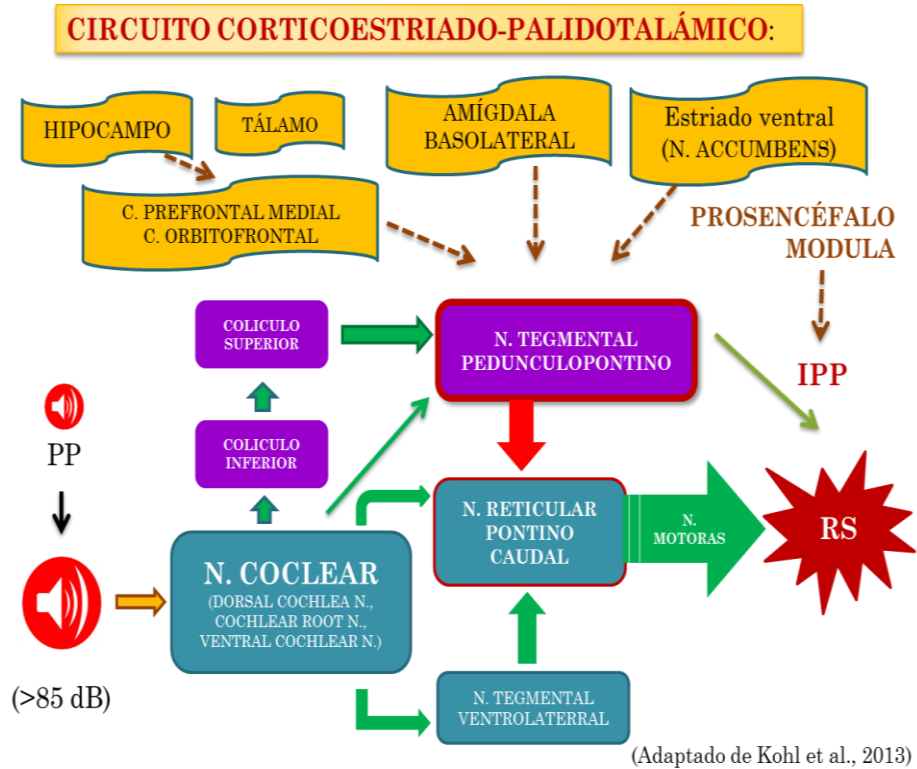


Figura 3. Circuito de la Respuesta de sobresalto a un estímulo acústico, circuito de la IPP y sus modulaciones (Adaptado de Kohl y cols., 2013).

3.4. Relación entre la IPP y el consumo de cocaína.

Pocos estudios han examinado la relación entre el consumo de cocaína y sus efectos en la IPP. En las Tablas 1 y 2 se muestra un resumen de los estudios al respecto, así como el efecto de otros fármacos dopaminérgicos tanto en humanos como en roedores:

Tabla 1. Efectos de la cocaína y otros fármacos dopaminérgicos en la IPP en humanos.

Fármaco	Forma	Sexo	IPP	Artículos
Cocaína, mínimo 1g al mes	Consumo reciente observado en muestras positivas de orina ----- Consumidores de cocaína no reciente (muestra negativa de cocaína) ----- Consumidores recreacionales de cocaína (RCU) y dependientes de la cocaína (DCU)	Hombres y mujeres	Normal o disminuye ----- Aumenta ----- Aumenta	Preller y cols., 2013
Agonista DA: Anfetamina (20 mg)	Consumo controlado en laboratorio, administración aguda	Hombres y Mujeres ---- Hombres	Disminuye	Hutchison y Swift, 1999 ----- Swerdlow y cols., 2003a
Agonista DA: Bromocriptina (1.25 mg)	Consumo controlado en laboratorio, administración aguda	Hombres	Disminuye	Abduljawad y cols., 1998
Antipsicótico, Antagonista DA: Clozapina (30 mg)	Administración aguda controlada en laboratorio	Hombres	Aumenta	Vollenweider y cols., 2006
Antipsicótico, antagonista DA: Sertindol (12 mg)	Administración aguda controlada en laboratorio	Hombres	Aumenta	Holstein y cols. 2011
Antipsicóticos, antagonista DA: Haloperidol (2, 3 y 5 mg)	Administración aguda controlada en laboratorio	Hombres	Normal o Disminuye	Abduljawad y cols., 1998; Kumari y cols., 1998; Oranje y cols., 2004

Tabla 2. Efectos de la cocaína y otros fármacos dopaminérgicos en la IPP en animales.

Fármaco	Animal	Forma	IPP	Artículos
Cocaína (20 y 30 mg/kg)	Ratas hembras ----- Ratas machos	Adm. aguda de dosis altas	Disminuye	Martinez y cols., 1999 ----- Byrnes y Hammer, 2000
Agonistas DA: Anfetamina (0.37 a 2.95 mg/kg) ----- Cocaína (0.68 a 5.44 mg/kg)	Ratas machos	Adm. aguda tanto dosis altas como bajas ----- Adm. aguda de dosis bajas	Disminuye ----- No cambios	Zhang y cols., 2000
Agonistas DA: Ketamina (9 a 36 µmol/kg) Anfetamina (2.7 a 11 µmol/kg) Apomorfina (Agonista D1 y D2; 2.5 a 9.9 µmol/kg)	Ratas machos	Adm. aguda tanto de dosis altas como bajas	Disminuye	Johansson y cols., 1995
Agonistas DA: Quinelorane (Agonista D2; 0.0032 a 5.6 mg/kg) R-6-Br-APB (Agonista D1; 0.0032 a 5.6 mg/kg)	Ratas y ratones machos	Adm. aguda	En ratones no efecto y en ratas disminuye	Ralph y Caine, 2005
Agonistas DA: Quinelorane (0.32 a 1 mg/kg) R-6-Br-APB (0.1 a 1 mg/kg)	Ciertas cepas de ratones ambos sex.	Adm. aguda	Disminuye de manera dosis dependiente	Ralph y Caine, 2007
Agonistas DA: Anfetamina (0.09 a 4 mg/kg) ----- Fenciclidina (0.1 a 10 mg/kg)	Ratas machos ----- Ratas ambos	Adm. tanto aguda como crónica	Disminuye	Geyer y cols., 2001 (revisión de estudios)

Agonista DA: Anfetamina, Apomorfinina	Ratones machos	Adm. aguda	Disminuye	Geyer y cols., 2002 (revisión)
Agonista DA: Apomorfinina (2.5, 5 o 7.5 mg/k) SKF82958 (Agonista D1; 0.03, 0.1, 0.3, 1 o 3 mg/kg) Dihidrexidina (Agonista D1; 1.3 o 10 mg/kg) Pergolida (1.25, 2.5, 5 o 10 mg/kg) Anfetamina (10mg/kg)	Ratones machos	Adm. aguda dosis altas y bajas	Disminuye	Ralph-Williams y cols, 2002; 2003
Agonista DA: Cocaína (30 mg/kg) Metilfenidato (Bloqueo de DAT y aumento de las monoaminas; 60 mg/kg)	Ratones machos	Adm. aguda de dosis altas	Disminuye	Yamashita y cols., 2006
Agonista DA SKF 81297 (Agonista D1/D5)	Ratones machos	Adm. aguda	Disminuye	Holmes y cols., 2001
Agonista DA: Quinpirole (Agonista D2/D3; 0.01 a 3 mg/kg en hembras y de 0.01 a 10 en machos)	Ratones machos y hembras	Adm. aguda dosis altas y bajas	No efecto	Ralph-Williams y cols., 2003
Antipsicóticos antagonista DA: Haloperidol (Antagonista D2/D3) Raclopride (Antagonista D2/D3)	Ratas	Adm. aguda	Aumenta	Swerdlow y Geyer, 1993b; Johansson y cols., 1995; Depoortere y cols., 1997; Zhang y cols., 2000
Síndrome de abstinencia a la cocaína, “ <i>cocaine withdrawn rats</i> ”: 10 días después de un tratamiento continuo de 5 días con pellets subcutáneos (120 y 240 mg)	Ratas hembras	Cese del consumo repetido de cocaína	No efecto	Martinez y cols., 1999
Síndrome de abstinencia a la cocaína, “ <i>cocaine-withdrawn rats</i> ”: 14 días después de un tratamiento continuo de 2 y 8 semanas (30 mg/kg. ip)	Ratas machos	Cese del consumo repetido de cocaína	No efecto	Adams y cols., 2001

El **decremento de la IPP** se produce en aquellos sujetos que dan positivo en cocaína en muestras de orina, por lo que se supone que han consumido recientemente esta sustancia. Por tanto, una disminución en la IPP se asocia a un aumento de la DA y de la norepinefrina (NE) (Preller y cols., 2013). El déficit en la IPP se observa en distintos trastornos psiquiátricos, tales como la esquizofrenia, y está asociado a una desregulación del sistema dopaminérgico (Braff y cols., 2001; Swerdlow y cols., 2001; Falkai y cols., 2015). En roedores, se ha observado la misma relación entre la cocaína y la IPP; la administración aguda de cocaína con dosis altas disminuye la IPP en ratas (Martinez y cols., 1999; Byrnes y Hammer, 2000) y en ratones (Yamashita y cols., 2006; Doherty y cols., 2008). Los agonistas de la dopamina, como la anfetamina reducen la IPP en humanos (Hutchison y Swift, 1999; Swerdlow y cols., 2003a), en ratas (Johansson y cols., 1995; Zhang y cols., 2000; Geyer y cols., 2002; Ralph-Williams y cols., 2003; Ralph y Caine, 2005), y en algunas cepas de ratones (Holmes y cols., 2001; Ralph-Williams y cols., 2002, 2003; Ralph y Caine, 2007), pero no en otras (Ralph-Williams y cols., 2003; Ralph y Caine, 2005). Aunque algunos agonistas de los receptores D2 han sido totalmente inefectivos en disminuir la IPP en ratones, se ha demostrado un efecto robusto de otros agonistas D2 como son la anfetamina y a la apomorfina en estos animales al igual que ocurre en las ratas (Dulawa y Geyer, 1996; Curzon y Decker, 1998; Ralph y cols., 2001a). Además, la anfetamina no produjo decremento en la IPP de los animales KO del receptor D2, y el raclopride (antagonista del receptor D2) aumentó la IPP en los ratones KO del transportador de la DA, sugiriendo que el receptor D2 puede ser el modulador clave en la IPP de los ratones al igual que ocurre en las ratas (Ralph y cols., 1999, 2001b). Los déficits en la IPP también se pueden inducir administrando drogas psicomiméticas tales como la anfetamina, la cocaína y la fenciclidina (también llamado PCP por sus siglas en inglés, es un anestésico disociativo, p.ej. ketamina) tanto en ratas como en ratones (Geyer y cols., 2001).

Por el contrario se observa un **aumento de la IPP** en consumidores recreacionales de cocaína o RCU (por sus siglas en inglés: *recreational users*) y dependientes de la cocaína o DCU (por sus siglas en inglés: *dependent cocaine users*) en comparación con los controles (Preller y cols., 2013). El Síndrome de abstinencia a la cocaína se asocia con bajos niveles de DA estriatal y alteraciones de la NE (Volkow y cols., 1997; Diana, 2011); lo cual puede explicar que en los ratones con síndrome de abstinencia provocado a la cocaína no se observen efectos en la IPP (Martinez y cols., 1999; Adams y cols., 2001). Así mismo, algunos antipsicóticos antagonistas dopaminérgicos incrementan la IPP en ratas (Swerdlow y Geyer, 1993b; Johansson y cols., 1995; Depoortere y cols., 1997; Zhang y cols., 2000) y en humanos (Vollenweider y cols., 2006; Holstein y cols. 2011); sin embargo, otros como el haloperidol no han tenido efecto o reducen la IPP en humanos (Abduljawad y cols., 1998; Kumari y cols., 1998; Oranje y cols., 2004). Es importante destacar que aunque la IPP aumente, no quiere decir que no exista una alteración catecolaminérgica; de hecho, el solapamiento del circuito de recompensa cerebral (en particular en el estriado ventral) y el circuito CSPP que regula la IPP se muestran alterados en los consumidores de cocaína, lo cual sugiere que la IPP puede estar alterada en los adictos a la cocaína debido a posibles cambios en el sistema DA estriatal (Volkow y cols., 1993; Swerdlow y cols., 1999; Zhang y cols., 2000; Martinez y cols., 2004). Esta interpretación estaría en línea con los resultados de estudios previos con imágenes obtenidas con tomografía por emisión de positrones o PET (por las siglas en inglés: *Positron Emission Tomography*) donde se observa una reducción de la función dopaminérgica estriatal en adictos a la cocaína (Volkow y cols., 1993; Volkow y cols., 1997; Martinez y cols., 2004; 2007). Además, el incremento de la IPP en personas DCU y RCU correlaciona con la duración y la cantidad de cocaína consumida, así como la intensidad de la abstinencia a la droga; observándose también en sujetos con síntomas clínicos relevantes de

Trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH) (Preller y cols., 2013).

Por tanto, el rol de la DA en la modulación de la IPP puede ser más compleja que una simple relación lineal entre las concentraciones de DA y su expresión (Preller y cols., 2013). Aunque sí que parece claro que el aumento de la DA reduce la IPP tanto en humanos como en roedores, y por el contrario una reducción catecolaminérgica no tiene efectos o aumenta la IPP en ambas especies. Recientemente no se encontró una correlación significativa entre los niveles de DA estriatales sinápticos y la IPP ni en los sujetos con un riesgo ultra alto de padecer psicosis (UHR por sus siglas en inglés: *ultra high risk*), ni en los controles; concluyendo este mismo estudio que existe una correlación mayor entre UHR con los déficits en la IPP, que con un aumento de la DA (De Koning y cols., 2014).

Como hemos visto en el punto anterior, los tres receptores dopaminérgicos (D1, D2 y D3) regulan los efectos comportamentales inducidos por la cocaína, ya que esta droga es un agonista dopaminérgico que inhibe la recaptación de DA en la sinapsis, produciendo estimulación conductual y precipitando la psicosis tras su uso continuado en los humanos (Doherty y cols., 2008). La contribución de estos tres receptores dopaminérgicos en los efectos disruptivos en la IPP producidos por la cocaína ha sido objeto de estudio recientemente por la implicación DA en este proceso. Concretamente, en un estudio con ratones *wild tipe* (WT) pre-tratados con el antagonista del receptor D1 SCH23390, con el antagonista de los receptores D2/D3 raclopride, y con ratones KO de los tres receptores, se demostró que el receptor D1 es necesario para los efectos disruptivos de la IPP producidos por la cocaína, mientras que los receptores D2 contribuyen parcialmente a estos efectos. En cambio, los receptores D3 parecen inhibir los efectos disruptivos en la IPP producidos por la cocaína (Doherty y cols., 2008). En concreto, los resultados indicaron que los tres tipos de receptores contribuyen de

forma diferente a los efectos disruptivos en la IPP producidos por la cocaína en ratones. En primer lugar, tanto el antagonista SCH23390 del receptor D1 como el antagonista raclopride de los receptores D2/3R atenúan completamente la disrupción producida por la cocaína en la IPP en los ratones WT. Es decir, después de disminuir la IPP por el efecto de la cocaína, la administración de ambos fármacos aumenta la IPP en los ratones. En segundo lugar, los ratones KO del receptor D1 no mostraron ninguna disrupción en la IPP tras la administración de cocaína, sugiriendo que el receptor D1 es necesario para inducir el déficit en la IPP producido por la cocaína. En tercer lugar, aquellos ratones KO del receptor D2 mostraron una atenuación del déficit en la IPP. En cuarto lugar, los ratones KO del receptor D3 mostraron un déficit exagerado en la IPP, sugiriendo que la activación del receptor D3 sirve para inhibir la disrupción de la IPP producida por la cocaína. Por tanto, cada tipo de receptor dopaminérgico parece modular de forma diferente las disrupciones en la IPP producidas por la cocaína como se ha podido observar en la falta de respuesta en los animales KO del receptor D1, en la débil respuesta en los animales KO del receptor D2 y en la exagerada respuesta en los animales KO del receptor D3.

3.5. Relación entre la IPP y la Patología Dual.

Como ya hemos visto, estudios con ratas han demostrado que el circuito córtico-estriado-pálido-pontino (CSPP) está implicado en la IPP. Las diferentes partes de este circuito juegan un papel decisivo en las bases neurales de una gran variedad de trastornos psiquiátricos. Por ejemplo, el Trastorno obsesivo-compulsivo (TOC) se piensa que es un trastorno debido a una disfunción del circuito CSPP (Stein, 2002). La actividad elevada estriatal y del COF encontrada en pacientes con TOC parece ser la causa de los déficits en la IPP. La hiperactividad en el NAcc podría conducir a una desinhibición del PnC vía PPTg. De la misma forma, estudios de imagen y

neurofisiológicos también muestran disfunciones cortico-estriatalales-talámicas-corticales y una menor inhibición intracortical en pacientes con Síndrome de Tourette (Swerdlow, 2013).

La evidente desincronización sensorio-motriz en los pacientes con esquizofrenia sugiere que las disfunciones en la IPP están relacionadas con síntomas específicos de algunos trastornos psiquiátricos, tales como una inhibición deficiente (Ahmari y cols., 2012) o la psicosis (Carroll y cols., 2007). Los síntomas principales del TOC son debidos a los déficits en el funcionamiento inhibitorio central. Las obsesiones emergen de la incapacidad para inhibir pensamientos no deseados. Las compulsiones reflejan la incapacidad para inhibir las reacciones de los pensamientos. Así mismo, los tics motores así como los tics vocales que se producen en el Síndrome de Tourette pueden ser vistos como el producto de una inhibición disfuncional. Incluso las ilusiones y alucinaciones pueden ser vistas como un malfuncionamiento de los procesos inhibitorios del cerebro (Kohl y cols., 2013). Además, los déficits en la IPP se han manifestado en un amplio rango de enfermedades o trastornos, tanto psiquiátricos como neurodegenerativos y afectivos (Takahashi y cols., 2011), cuyo nexos lo constituye la presencia de anomalías en los mecanismos de inhibición sensorial, cognitivos o motores. Algunos de estos trastornos también presentan en su neurobiología un correlato anatomo-funcional común con la IPP (sistema serotoninérgico, gabérgico y glutamatérgico de estructuras corticales, límbicas, y estriatales), anomalías, principalmente en el sistema de neurotransmisión dopaminérgico, e incluso se observan déficits de la IPP en familiares de estos pacientes (García-Sánchez y cols., 2011). Considerando esto, podemos clasificar la IPP como un sistema independiente al diagnóstico categorial, respaldando su utilidad como endofenotipo, subyacente tanto en la alteración de mecanismos inhibitorios (Esquizofrenia, TOC o Trastorno del espectro autista: TEA) como en lo referido a las alteraciones de procesos cognitivos (Demencias, Esquizofrenia o Trastorno bipolar). Recientemente, un

estudio ha demostrado que efecto del alcohol y/o estrés sobre la respuesta de la IPP es diferente en los ratones según sea su preferencia alta o baja por el alcohol; lo que les ha llevado a sugerir que el alto riesgo genético para el alcoholismo puede estar relacionado con una sensibilidad mayor al alcohol y a los efectos del estrés en la IPP, y esta sensibilidad puede ser un endofenotipo para el riesgo genético de padecer alcoholismo (Powers y Chester, 2014). Con todo ello, la IPP podría considerarse como un posible marcador psicofisiológico de enfermedades mentales, aunque investigaciones futuras son necesarias (García-Sánchez y cols., 2011).

La IPP en humanos muestra una buena fiabilidad test-retest, sugiriendo que existen diferencias individuales muy estables en los sustratos neurales y en los procesos que subyacen la filtración sensorio-motriz (Cadenhead y cols., 1999). De hecho podemos afirmar que la IPP es un marcador neurobiológico estable ya que las medidas repetidas de la IPP en intervalos de un mes durante 3 meses en diez hombres adultos mostraron una correlación intrasujeto de 0.94 cuando se utilizaron pre-pulsos relativamente altos (Braff y cols., 2001). Además, una serie de estudios sobre el curso del desarrollo de la IPP en humanos reveló que los bebés también muestran IPP, cuando se utilizaron pre-pulsos con intervalos largos y pre-pulsos relativamente débiles. Aunque hay que tener en cuenta que las estructuras cerebrales que facilitan la IPP probablemente no son totalmente funcionales hasta los 8-10 años (Ornitz y cols. 1991). La IPP se considera un rasgo, pero sensible a factores de desarrollo, tales como el aislamiento social, las perturbaciones e influencias neuroquímicas y hormonales tóxicas del medio interno (homeostasis o milieu) del sistema nervioso (Braff y cols., 2001). Una gran ventaja de esta técnica es que las implicaciones neurobiológicas y patológicas de los cambios producidos por el desarrollo en la IPP en humanos se pueden estudiar en modelos animales (Braff y cols., 2001; Swerdlow, 2013). Como hemos visto, los déficits en la IPP se han descrito en varios trastornos psiquiátricos y en ratas después de la activación del

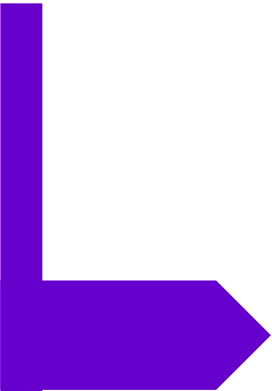
sistema dopaminérgico mesolímbico. El paradigma de la IPP que se utiliza en roedores se ha propuesto como un modelo de disfunción atencional igual al que ocurre en estos trastornos, con validez de constructo, de predicción y de diseño (Weiss y Feldon, 2001; Li y cols., 2009).

Como se ha señalado anteriormente, un aumento en el sistema dopaminérgico conlleva déficits en la IPP; se ha señalado también que la participación de la DA en la vía mesolímbica juega un papel clave en el inicio y el mantenimiento del abuso de la cocaína, presentando además, el NAcc un papel crítico en los efectos reforzantes de la cocaína (Thanos y cols., 2008). De hecho, parece ser que las diferencias individuales en IPP basales predicen diferencias individuales en la sensibilidad a drogas dopaminérgicas entre otras (Anokhin y cols., 2003). Sabemos que la cocaína eleva los niveles de DA extracelular, en las regiones terminales del sistema mesolímbico dopaminérgico (NAcc entre otras regiones límbicas), lo que contribuye a los efectos reforzantes de la propia droga. Y, se ha comprobado que el receptor D2 en particular juega un papel relevante en los efectos reforzantes de esta sustancia (Merritt y Bachtell, 2013). Con el uso repetido de la cocaína tanto en humanos como en ratones se demuestran alteraciones en el sistema mesolímbico DA, actuando estas alteraciones como un factor predisponente al propio consumo, a pesar de que no todas las personas que consumen se hacen adictas. Se han encontrado bajos niveles de receptores D2 en cerebros humanos de personas adictas a la cocaína, incluyendo aquellas que no son adictas pero sí abusan de ésta. Asimismo, personas no adictas con bajos niveles de DA en el receptor D2 informan de que les gusta más la droga que aquellos con niveles de DA normales. Ratones a los que se les ha mutado el receptor de dopamina D2 se auto-administran más cocaína en comparación con aquellos animales a los que no se les ha llevado a cabo esta mutación. Mientras que, un aumento de los receptores D2 reduce el consumo de cocaína en los ratones (Merritt y Bachtell, 2013). Por todo ello, el receptor D2 puede ser considerado

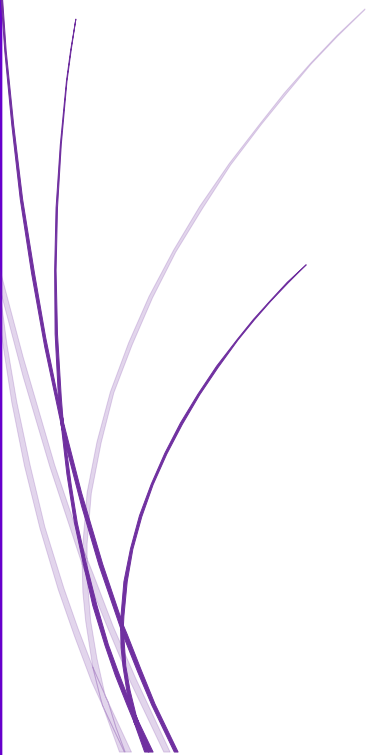
IPP

como una variable neurobiológica que modula la vulnerabilidad de las personas a las drogas de abuso (Thanos y cols., 2008).

Por esto, es de esperar que la IPP actúe como marcador de la sensibilidad a estos efectos reforzantes de la cocaína. Esta técnica se consideró útil para ello, ya que (a) detecta las diferencias individuales, (b) se emplea tanto en humanos como en roedores de forma similar, (c) está mediada su respuesta por el sistema dopaminérgico y (d) los sustratos neurales que la regulan están implicados también en los efectos reforzantes de la cocaína.



**CONDICIONAMIENTO
DE PREFERENCIA DE
LUGAR**



4. El condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) como modelo animal para el estudio de los efectos reforzantes de la cocaína.

El Condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) es uno de los modelos más populares para el estudio de los efectos motivacionales producidos por las drogas en la experimentación animal (ver revisión: Tzschentke, 2007). En este paradigma se ha abordado el estudio de la tolerancia y la sensibilización de los efectos reforzantes de las drogas inducidos por regímenes de pre-tratamiento, así como el estudio del procedimiento de extinción/reinstauración (Aguilar y cols., 2009). Además, se ha podido observar el creciente uso de este modelo en otros campos como es el estudio con animales genéticamente modificados y el estudio de aspectos motivacionales del dolor.

4.1. Historia del CPL.

El estudio de Spragg en 1940 con chimpancés fue el primero que utilizó el procedimiento del CPL como modelo para estudiar el refuerzo. En este estudio se les inyectaba diariamente morfina en una caja blanca hasta que los animales se convertían en dependientes de dicha droga. Tras la privación de la morfina, los chimpancés eligieron la caja blanca a pesar de tener la oportunidad de elegir otra caja de color negro que contenía un plátano (Bardo y Bevins, 2000).

Siguiendo la misma línea de investigación que el estudio de Spragg, Beach en 1957 demostró cómo se podía entrenar a ratas dependientes de morfina para que eligiesen el brazo del laberinto en Y que previamente había sido apareado con la morfina. El hallazgo más importante al que llegaron estos autores fue que la dependencia física no era un pre-requisito para conseguir la preferencia condicionada de lugar, ya que las ratas que no eran dependientes de la morfina también eligieron el compartimento asociado a la droga (Bardo y Bevins,

2000). Rossi y Reid en 1976 publicaron un artículo donde describían el cálculo del índice de la preferencia, el cual era definido a partir del tiempo de permanencia en el lugar asociado a la morfina en comparación con el tiempo de permanencia en el lugar asociado al vehículo (Bardo y Bevins, 2000). Siguiendo el ejemplo de Beach, este protocolo de condicionamiento de lugar se aplicó de forma diversa en las siguientes décadas, convirtiéndose en un paradigma de modelo experimental para el estudio de los efectos condicionados y asociativos que inducen las sustancias de abuso (Tzschentke, 1998).

El creciente uso en las últimas décadas del siglo pasado de este procedimiento se debe principalmente al debilitamiento conductista y a la aparición de la revolución cognitiva, la cual introdujo una amplia variedad de estudios conductuales. Por ejemplo, el descubrimiento de la modificación de la conducta a través de las propiedades incentivas, sin influencia del refuerzo operante (Manzanedo y cols., 2001). Además, numerosas ventajas del paradigma cubrían las necesidades de otros modelos anteriores como la auto-administración para el estudio del refuerzo. En el momento del test, cuando se realiza la evaluación de la preferencia condicionada, el animal está libre de droga, por lo que no existe interferencia en la ejecución de la respuesta, bien porque produzca un efecto motor (sedante o estimulante de la actividad motora) o por la manifestación de propiedades motivacionales aversivas o apetitivas. Otras ventajas del modelo han contribuido a su gran popularidad, como el hecho de ser sensible tanto al refuerzo como a la aversión, de permitir la determinación simultánea del CPL y de la actividad locomotriz, de poder adaptarse a una gran variedad de especies y de ser de gran utilidad para probar los circuitos neurales que subyacen al refuerzo de las drogas (Tzschentke, 1998, 2007; Bardo y Bevins, 2000).

Dado que el test del CPL se realiza cuando el animal no se encuentra bajo los efectos de la droga, se considera que la preferencia a permanecer en el ambiente que se había asociado al efecto de la

droga es una medida del recuerdo del valor apetitivo y hedónico que tiene el animal, por lo que se utiliza para evaluar la conducta de búsqueda de la droga. La conducta de búsqueda de la droga está relacionada con la aparición del *craving* o el ansia por consumir la droga, un estado que conduce a la recaída en el consumo. Utilizando el paradigma de CPL y evaluando la conducta de búsqueda (la preferencia condicionada que ha desarrollado el animal) se ha podido estudiar el efecto de situaciones o estímulos que provocan la reinstauración de la conducta de búsqueda una vez se había extinguido y factores que pueden hacer más difícil la reinstauración de dicha conducta, por lo que, en la actualidad, el paradigma de CPL se utiliza para evaluar factores de vulnerabilidad que pueden precipitar la recaída en el consumo (Ribeiro Do Couto y cols., 2006, 2009).

4.2. Procedimiento del CPL.

El fundamento del paradigma del CPL se basa en los principios del condicionamiento clásico, donde un estímulo ambiental (contextual) tras asociarse repetidamente al efecto reforzante de una droga, adquiere propiedades apetitivas secundarias, ya que se produce una asociación entre el efecto interoceptivo que produce la sustancia en el individuo (refuerzo primario) y las claves ambientales donde se experimenta dicho efecto. Tras varias asociaciones, y de acuerdo a los principios del condicionamiento clásico, determinadas claves de dicho ambiente adquieren propiedades motivacionales capaces de dirigir la conducta (refuerzo secundario), destacando la importancia que tienen en el inicio, mantenimiento y abuso de una droga (Tzschentke, 1998, 2007). Las claves de asociación que se utilizan son estímulos preferentemente visuales o táctiles, como es el color o la rugosidad de un aparato, o aquellas fácilmente detectables para el animal, siendo recomendable, no utilizar claves con un potente valor de especie, como p.ej. claves de olor en los roedores.

Existen varios tipos procedimientos utilizados para realizar el condicionamiento. En general, el procedimiento comienza realizando la medición previa del tiempo que cada animal permanece en uno de los compartimentos, para conocer si existe una preferencia incondicionada, es la fase denominada pre-condicionamiento. La obtención de esta medida (Pre-C, Pre-Condicionamiento) sirve para compararla con la medida obtenida tras las sesiones de condicionamiento en el día del test (Post-C, Post-Condicionamiento), obteniendo la diferencia de los tiempos pasado en el compartimento asociado con la droga para el mismo animal. Son pocos los procedimientos que no evalúan la preferencia incondicionada, optando en este caso por evaluar la presencia de diferencias significativas en el Post-C entre diferentes animales que han sido condicionados en uno u otro lugar, o bien utilizando la diferencia en el Post-C del mismo animal en el lugar asociado frente al no asociado. En estos protocolos, el desconocer la preferencia incondicionada inicial de cada animal presenta un sesgo importante.

Entre los protocolos que realizan la evaluación de la preferencia inicial de cada animal se han descrito tres tipos de condicionamiento: sesgado, no sesgado y balanceado. En el condicionamiento sesgado, la droga se asocia al compartimento que los animales no prefieren de forma incondicionada (es habitual que los ratones prefieran un compartimento oscuro frente a uno claro e iluminado debido a su ftofobia y a su ciclo de actividad nocturno) y la administración de vehículo o suero fisiológico se realiza en el lugar que inicialmente prefieren. En este caso, el condicionamiento significaría un cambio de preferencia ya que todos los animales en principio prefieren un lugar.

Con el fin de demostrar claramente que una droga produce un efecto reforzante se realiza el protocolo no sesgado, en el cual, no debe existir una clara preferencia por ningún compartimento antes del condicionamiento y la droga se administra en los compartimentos asignados al azar. Además, en el protocolo balanceado, de cada grupo,

la droga se administra a la mitad de ese grupo en un compartimento y a la mitad en el otro. Para conocer bien si existe una preferencia incondicionada antes de comenzar las sesiones de condicionamiento, en general, se permite que los animales exploren cada compartimento durante dos o tres días (en ratones). Se utiliza la medida del tercer día y si algún animal pasa mucho tiempo en uno de los compartimentos se considera que tiene una fuerte preferencia incondicionada, por lo que no es idóneo para realizar el condicionamiento, ya que se entiende que la droga cambiaría su preferencia (porque presente un efecto ansiolítico p.ej.) pero no desarrollaría una preferencia, por lo que se descarta.

En cuanto a las sesiones de condicionamiento que se pueden realizar y el tiempo de cada condicionamiento, es variado y depende de la droga utilizada para realizarlo. La fase de condicionamiento es el momento en el que se produce la asociación del efecto interoceptivo a las claves del compartimento. Algunos estudios utilizan protocolos en los cuales se realizan dos sesiones de condicionamiento al día, (una con la droga en un compartimento y otra sesión con el vehículo en el otro compartimento) separadas con un intervalo al menos, de cuatro horas entre sesiones. Es el protocolo utilizado en nuestro laboratorio para realizar el condicionamiento con morfina o cocaína y dependiendo de la farmacocinética de la droga utilizada, el tiempo de las sesiones de condicionamiento es diferente, con morfina es de 60 minutos y con cocaína de 30 (Manzanedo y cols., 2001, 2012). Por otro lado, la diferente farmacodinámica de las drogas nos ha informado que el condicionamiento es sensible al intervalo entre las sesiones de tratamiento, siendo mejor utilizar días alternos para ver los efectos asociativos reforzantes de la 4-Metilendioximetanfetamina o MDMA (Daza-Losada y cols., 2007).

Finalizados los días de condicionamiento se realiza el test, midiendo a los animales el tiempo que permanecen en el compartimento que se había asociado a la droga. Esta fase se suele

CPL

realizar a las 24 horas, algunos estudios incluso lo realizan a las 48 horas. En cualquier caso se realiza cuando el animal está libre del efecto inmediato de la droga. La medida obtenida en el Post-C nos informa de si la sustancia administrada ha tenido la capacidad de desarrollar una asociación con las claves de un ambiente determinado, claves que adquieren la capacidad de actuar como efectos condicionados que dirigen la conducta del animal, interpretándose que si permanece más tiempo en contacto con ellos del que permanecía en el Pre-C, esa sustancia presenta un valor de refuerzo y es cuando se considera que se ha producido un CPL (Aguilar y cols., 2009).

Utilizando el paradigma del CPL y siguiendo los principios del condicionamiento clásico, se puede evaluar la evolución de la preferencia. La fase de extinción se define como el decremento de la frecuencia o la intensidad de la respuesta aprendida después de eliminar el estímulo incondicionado (en este caso la droga) que previamente había reforzado el aprendizaje (Pavlov, 1927). La extinción provee una medida de las propiedades motivacionales de las drogas, las cuales se ven reflejadas por la persistencia en el comportamiento de búsqueda de la droga en ausencia de la misma. La exposición del animal libre de fármaco al contexto que anteriormente se había asociado con la droga se denomina extinción en el modelo CPL (Shalev y cols., 2002; Epstein y cols., 2006). Generalmente, se utiliza la diferencia significativa entre el tiempo transcurrido en el compartimento asociado a la droga en la sesión de extinción y en el test del CPL. Sin embargo, algunos estudios consideran que la extinción del CPL se produce cuando no existen diferencias significativas entre el tiempo que pasan los grupos a los que se les asoció la droga en un compartimento con los que se les asoció con vehículo (Li y cols., 2002), o cuando los animales pasan menos del 55% del tiempo total en el compartimento asociado a la droga en dos días consecutivos (Shoblock y cols., 2005). La extinción normalmente se realiza repitiendo el test del CPL hasta que la preferencia por el compartimento asociado a la droga desaparece (Mueller y Stewart,

2000; Sanchez y Sorg, 2001; Szumlinski y cols., 2002; Sanchez y cols., 2003; Maldonado y cols., 2006, 2007; McGeehan y Olive, 2006; Carey y cols., 2007; Kelley y cols., 2007) después de realizar el test diariamente o semanalmente.

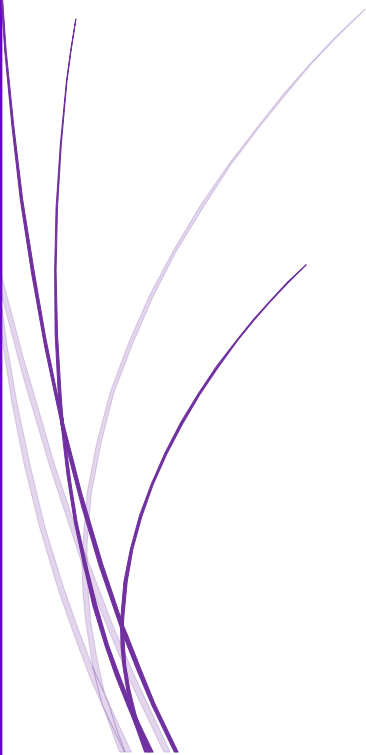
Tras la extinción de una respuesta condicionada, la reinstauración se refiere a la recuperación de la respuesta aprendida cuando el sujeto es expuesto a un estímulo no contingente. En el caso del CPL, la reinstauración o recuperación de la preferencia condicionada, la cual representa volver a buscar la droga (recaída en humanos), ocurre cuando el animal después de la extinción es expuesto a la droga, a las claves asociadas a las drogas o a estresores (Shaham y cols., 2003; Epstein y cols., 2006). Concretamente, después de extinguir el CPL, éste se reinstaura de una manera robusta al administrar de forma no contingente una dosis *priming* de la droga (la mitad de la dosis administrada en el CPL), incluso en algunos casos, de una droga diferente a la que se administró durante el condicionamiento, lo que se conoce como reinstauración cruzada (*cross reinstatement*) (Aguilar y cols., 2009). Para considerar que la droga *priming* ha producido la reinstauración del CPL, deben existir diferencias significativas entre los valores obtenidos en la reinstauración y aquellos obtenidos en el Pre-C o en la extinción. Por otra parte, la falta de diferencias significativas entre los valores de la reinstauración y los valores del Post-C es necesaria para considerar que se ha producido la reinstauración. La reinstauración de la respuesta a través de la inyección de una dosis *priming* de una droga se considera un modelo fiable para el estudio de los mecanismos implicados en la recaída y la búsqueda (ansia o deseo) de la droga (De Vries y cols., 1998; Shalev y cols., 2002; Aguilar y cols., 2009). En concreto, numerosos estudios han demostrado la reinstauración del CPL inducido por cocaína en ratas (Mueller y Stewart, 2000; Sanchez y Sorg, 2001; Sanchez y cols., 2003; Zavala y cols., 2003; Graham y cols., 2007) y en ratones (Itzhak y Martin, 2002; Szumlinski y cols., 2002; Kreibich y Blendy, 2004; Romieu y cols., 2004; Maldonado y

CPL

cols., 2006, 2007; McGeehan y Olive, 2006; Montagud-Romero y cols., 2014) con la inyección de una dosis *primig* de cocaína.



CPL Y COCAÍNA



5. CPL y cocaína.

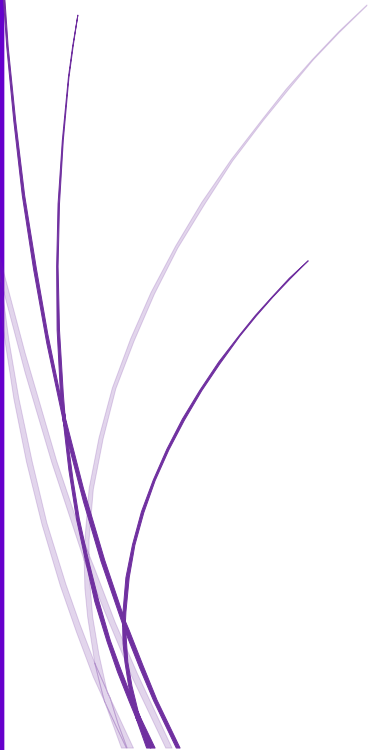
Como hemos mencionado anteriormente, diversos estudios han demostrado la capacidad de la cocaína para inducir CPL en ratas (Mueller y Stewart, 2000; Sanchez y Sorg, 2001; Sanchez y cols., 2003; Zavala y cols., 2003; Graham y cols., 2007) y en ratones (Itzhak y Martin, 2002; Szumlinski y cols., 2002; Kreibich y Blendy, 2004; Romieu y cols., 2004; Maldonado y cols., 2006, 2007; McGeehan y Olive, 2006; Vidal-Infer y cols., 2012a; Mateos-García y cols., 2014; Montagud-Romero y cols., 2014). Además, una vez establecida la preferencia se mantiene a lo largo del tiempo (más de cuatro semanas) cuando los animales realizan pruebas (test) de CPL ocasionales (Mueller y Stewart., 2000).

El paradigma del CPL ha demostrado ser eficaz a la hora de diferenciar sujetos con diferentes tipos de rasgos de personalidad o endofenotipos que les hacen más sensibles a las propiedades reforzantes asociativas de la cocaína. Recientemente nuestro grupo ha demostrado por primera vez como ratones adolescentes y jóvenes-adultos de ambos sexos con un perfil conductual de altos buscadores de la novedad eran más sensibles a los efectos reforzantes de cocaína ya que adquirirían el CPL con una dosis subumbral de la droga (1mg/kg) (Vidal-Infer y cols., 2012a; Arenas y cols., 2014). Así mismo, otros estudios en nuestro laboratorio han comprobado la influencia del endofenotipo de búsqueda de la novedad (*novelty-seeking*) tiene sobre los efectos a largo plazo de la exposición temprana a drogas (Montagud-Romero y cols., 2014; Mateos-García y cols., 2014; Rodríguez-Arias y cols., 2015). Los ratones fueron categorizados como altos o bajos buscadores de la novedad durante la adolescencia y seguidamente expuestos a una administración repetida e intensa (*binge*) de cocaína, MDMA o alcohol. Posteriormente, ya de adultos, fue evaluada su sensibilidad a los efectos de la cocaína y el MDMA en el paradigma del CPL. Los altos buscadores de la novedad presentaron una mayor sensibilidad a los efectos condicionados de

estas drogas en el CPL en comparación a los bajos buscadores cuando fueron evaluados en la adultez (Mateos-García y cols., 2014; Rodríguez-Arias y cols., 2015). La exposición durante la adolescencia al alcohol incremento la sensibilidad a las drogas cocaína y MDMA tanto a los ratones altos como bajos buscadores de la novedad en la adultez, sin embargo los altos buscadores presentaron más reinstauraciones de la conducta de búsqueda de la droga en el CPL y con dosis más bajas que los bajos buscadores (Montagud-Romero y cols., 2014).



HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO



6. Hipótesis y objetivos del estudio.

Hipótesis: La respuesta en la inhibición pre-pulso (IPP) discriminará a los sujetos más sensibles a las propiedades reforzantes de la cocaína y a establecer una asociación más duradera entre las claves del ambiente y las propiedades reforzantes de la droga. Los ratones machos y hembras con una mayor IPP presentarán un perfil cognitivo-comportamental diferente de los animales con una menor IPP.

Objetivo general: Evaluaremos la capacidad de la IPP como marcador psicofisiológico para detectar los ratones más vulnerables a los efectos reforzantes de la cocaína. Para ello, no solo comprobaremos la sensibilidad de la IPP para detectar a los animales más vulnerables a dichos efectos de la cocaína en el condicionamiento de preferencia del lugar (CPL), sino que determinaremos también las diferencias cognitivo-comportamentales de los ratones según su respuesta en la IPP para poder explicar las posibles diferencias encontradas en el CPL.

Objetivos específicos:

1. Evaluación del valor reforzante de la cocaína con el paradigma del CPL en ratones machos y hembras adultos categorizados según su respuesta en la IPP.

En primer lugar, categorizaremos a los animales según su mayor o menor respuesta en la IPP (%IPP), dentro de cada sexo por separado. En este objetivo procederemos a realizar el CPL inducido con diferentes dosis de cocaína, evaluando tanto la adquisición del condicionamiento como, en los grupos condicionados, la extinción y la posible reinstauración de la respuesta condicionada con dosis *priming* de cocaína (50% de la dosis anterior).

Hipótesis y objetivos del estudio

1.1. Evaluar el valor reforzante de la cocaína con una dosis subumbral (1 mg/kg), la cual solo produce preferencia condicionada en aquellos animales con una mayor sensibilidad para detectar la cocaína.

1.2. Evaluar el valor reforzante de la cocaína con una dosis de 6 mg/kg, la cual es efectiva para adquirir el CPL pero insuficiente normalmente para evaluar la reinstauración inducida con mitad de la dosis (3 mg/kg de cocaína).

1.3. Evaluar el valor reforzante de la cocaína con una dosis de 12.5 mg/kg, efectiva tanto para adquirir el CPL como para evaluar la reinstauración inducida con la mitad de la dosis (6 mg/kg de cocaína).

2. Determinar el perfil conductual de los ratones machos y hembras categorizados según su mayor o menor respuesta en la IPP.

Una vez categorizados los animales según su sexo y según su mayor o menor respuesta en la IPP (%IPP), serán evaluados en diferentes pruebas para determinar rasgos conductuales y de personalidad como:

2.1. La actividad motora espontánea en el test del campo abierto.

2.2. La búsqueda de la novedad con el test del *hole-board*.

2.3. La conducta social en un encuentro de interacción social con un oponente anónimo del mismo sexo.

3. Evaluar la función cognitiva de los ratones machos y hembras categorizados según su mayor o menor respuesta en la IPP.

Una vez categorizados los animales según su sexo y según su mayor o menor respuesta en la IPP (%IPP), para determinar posibles diferencias en su cognición, concretamente en aprendizaje y memoria, serán testados en diferentes pruebas como:

3.1. La tarea del reconocimiento del objeto novedoso (aprendizaje relacional y perceptivo).

3.2. El laberinto de Hebb-Williams (aprendizaje y memoria espacial).

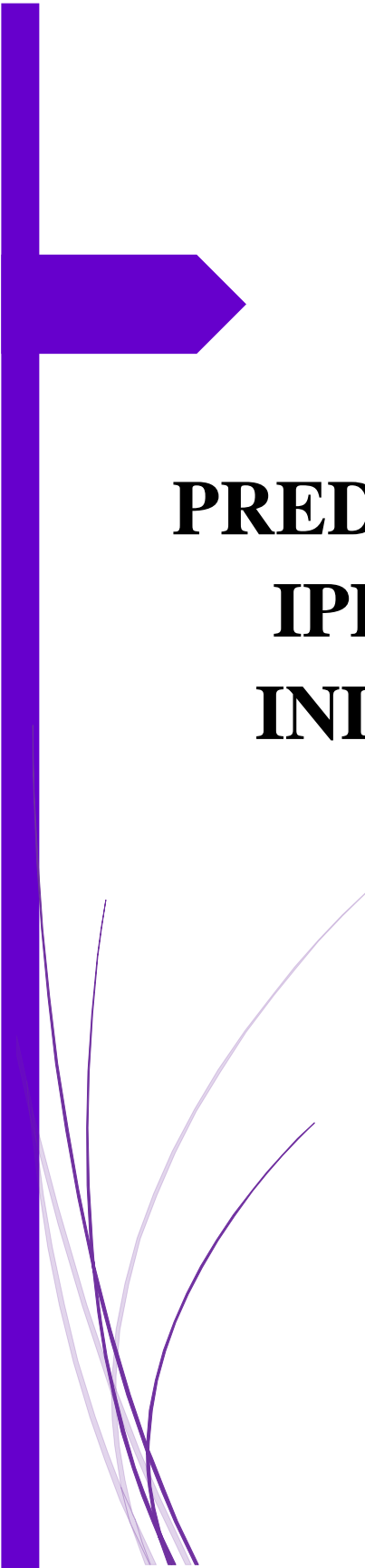
3.3. La prueba del condicionamiento de la evitación pasiva (memoria emocional).

4. Evaluar la sintomatología asociada a patología psiquiátrica de los ratones machos y hembras categorizados según su mayor o menor respuesta en la IPP.

Una vez categorizados los animales según su sexo y según su mayor o menor respuesta en la IPP (%IPP), para estimar si presentan diferencias en conductas asociadas a sintomatología psiquiátrica (concretamente ansiedad y depresión), serán evaluados en diferentes pruebas como son:

4.1. El test del laberinto elevado en cruz (ansiedad en un entorno novedoso).

4.2. El test de suspensión por la cola (desánimo conductual/anhedonia).



**ESTUDIO 1:
VALOR
PREDICTIVO DE LA
IPP EN EL CPL
INDUCIDO POR
COCAÍNA**

7. Estudio 1: Valor predictivo de la IPP de los efectos reforzantes de la cocaína en el condicionamiento de la preferencia de lugar (CPL) en ratones machos y hembras.

Numerosos estudios han sugerido que la vulnerabilidad a la adicción a las drogas es el resultado de la interacción entre un fenotipo o personalidad vulnerable, la droga en cuestión y el ambiente (Belin y Deroche-Gamonet, 2012). La respuesta en la IPP es considerada un posible marcador biológico de vulnerabilidad para determinados trastornos neuropsiquiátricos. Estos trastornos tienen en común ciertos deterioros cognitivos como déficits en el procesamiento de la información y en el control de impulsos, los cuales se deben a las alteraciones del sistema dopaminérgico que manifiestan (Nestler y Hyman, 2010). Por otro lado, un deficiente control de impulsos se relaciona con un mayor consumo y abuso de drogas como la cocaína (Herrero y cols., 2008; Dolan y cols., 2008). Se ha demostrado que el consumo de psicoestimulantes como la cocaína, modifican la respuesta en la IPP por las alteraciones del sistema dopaminérgico que produce su consumo tanto agudo como crónico (Preller y cols., 2013). Sin embargo, solo existe un estudio previo que demuestra la capacidad de la IPP para predecir el desarrollo de sensibilidad a los efectos motores de psicoestimulantes como la anfetamina (Peleg-Raibstein y cols., 2013). Así hasta la fecha no hay estudios que hayan comprobado la relación entre la respuesta de los sujetos en la IPP y su sensibilidad a los efectos reforzantes de la cocaína.

El presente estudio pretende demostrar que la IPP de la respuesta de sobresalto ante un estímulo auditivo puede ser un marcador psicofisiológico útil en la detección de la población con mayor vulnerabilidad a desarrollar un trastorno por uso de sustancias como la cocaína.

En primer lugar determinamos los parámetros más adecuados para identificar a los animales con el rasgo de una mayor o menor capacidad para inhibir la respuesta de sobresalto tras el pre-pulso

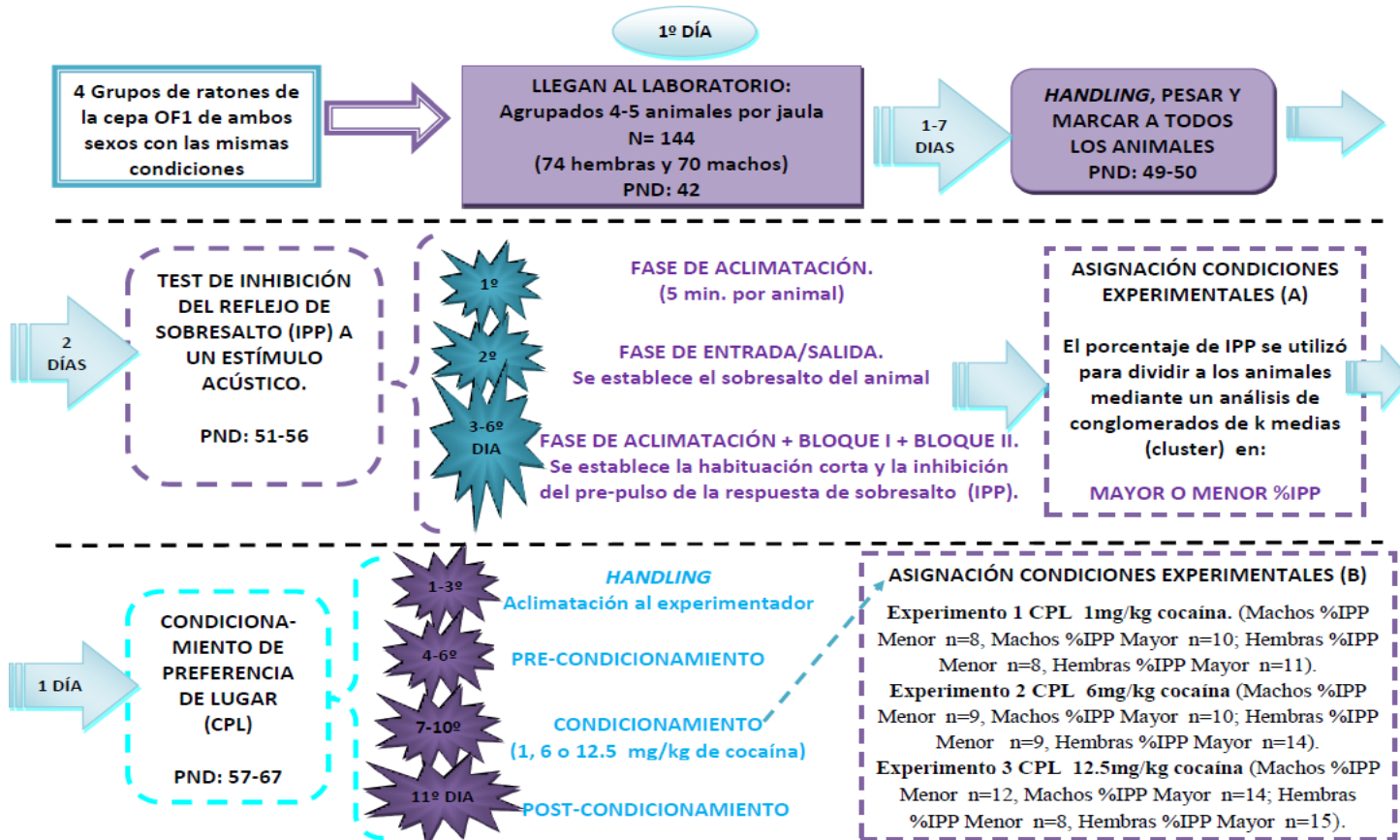
(altos o bajos inhibidores, mayor o menor IPP). Se categorizó a los animales según su mayor o menor respuesta en la prueba de la IPP (%IPP), dentro de cada sexo por separado ya que, desde nuestros primeros estudios, habíamos comprobado que machos y hembras se distinguían en su capacidad para inhibir su respuesta de sobresalto en la prueba de la IPP.

En segundo lugar, procedimos a realizar el CPL inducido con diferentes dosis de cocaína. Se ha demostrado que la cocaína induce una preferencia de lugar condicionada con un amplio rango de dosis que van desde 3 a 50 mg/kg (Seale y Carney, 1991; Cunningham y cols., 1999; Zhang y cols., 2002; Brabant y cols., 2005; Maldonado y cols., 2006). No se han encontrado diferencias en la magnitud de la preferencia condicionada manifestada por los animales según las dosis empleadas, lo que sugiere que no existe una respuesta dosis-dependiente en la magnitud o adquisición de la preferencia (Brabant y cols., 2005; Maldonado y cols., 2006). De acuerdo con el estudio de Maldonado y cols., (2006), las diferencias observadas en la preferencia condicionada según la dosis de cocaína empleada, se observan en la extinción de la respuesta condicionada y en la reinstauración de dicha preferencia mediante dosis *priming* de cocaína. La extinción conlleva más tiempo en los grupos que condicionados al lugar con las dosis más altas (50 mg/kg) que con las más bajas (3 mg/kg), mientras que la reinstauración de la preferencia, es mayor cuanto mayor es la dosis utilizada para la adquisición del CPL (Aguilar y cols., 2009). Por otro lado, la dosis de cocaína de 1 mg/kg ha demostrado ser inefectiva para inducir CPL cuando los animales son considerados globalmente, en su conjunto; sin embargo, esta dosis se ha mostrado efectiva en provocar un CPL cuando es utilizada en ratones que presentan rasgos determinados como mayores niveles de búsqueda de la novedad (Vidal-Infer y cols., 2012a; Arenas y cols., 2014) o en grupos sometidos a determinadas manipulaciones experimentales, como el tratamiento previo con etanol (Mateos-García y cols., 2015) o con cocaína en la adolescencia (Mateos-García y

cols., 2014). Por todo ello, consideramos que es una dosis subumbral especialmente útil para discriminar los animales que son más sensibles a los efectos reforzantes de la droga. Según nuestra hipótesis, si el grupo de ratones altos inhibidores de la IPP desarrollan un CPL con una dosis inefectiva de cocaína (1 mg/kg), indicaría que la droga puede ser más reforzante y/o los animales aprenden más eficientemente que los animales con una baja inhibición. Considerando que una alteración en el incentivo de las drogas y/o en su capacidad de asociación con las claves ambientales puede hacer que la saliencia por la droga perdure durante años, aun cuando se deje de consumir, es importante valorar las diferencias en la sensibilidad a los efectos reforzantes de la cocaína entre los animales con una alta y baja IPP.

En este estudio realizamos tres experimentos utilizando tres dosis de cocaína para inducir CPL: 1 mg/kg (**Experimento 1**); 6 mg/kg (**Experimento 2**); y 12.5 mg/kg (**Experimento 3**). En cada experimento evaluamos la adquisición de la preferencia condicionada y en los grupos que presentaron dicha preferencia, se realizó la extinción y la reinstauración de la respuesta condicionada utilizando dosis *priming* de cocaína (50% de la dosis anterior).

ESQUEMA DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL 1



7.1. Material y métodos.

7.1.1. Animales.

En todos los experimentos se utilizaron ratones adultos machos y hembras de la cepa OF1 adquiridos en los laboratorios Charles River (Barcelona, Spain), de 42 días de edad (Post Natal Day, PND) a su llegada al animalario y con un peso aproximado de entre 31-42 gramos en machos y 26-31 gramos en hembras. En este primer estudio se utilizaron un total de 144 ratones adultos, 70 machos y 74 hembras. Los animales se agruparon de cuatro en cuatro o cinco en las jaulas (27 x 27 x 15 cm³) con libre acceso a la comida y la bebida (*ad libitum*), encontrándose a una temperatura ambiente constante de 21±22°C, con una humedad del 60% y bajo un ciclo invertido de luz-oscuridad de 12h (con fase de luz desde las 20:00 hasta las 8:00 horas). Todos los animales permanecieron un período entre cinco y siete días de adaptación al animalario. Los animales fueron aclimatados al experimentador durante dos días (*handling*), transcurridos los cuales se comenzó la parte experimental.



El protocolo experimental y el uso de los animales se realizaron conforme a la normativa legal vigente (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the council of September 22, 2010) sobre la protección de animales usados con fines experimentales. El estudio que se presenta forma parte de una investigación cuyo diseño está aprobado por el Comité de ética para el uso y cuidado de animales de experimentación de la Universitat de València y por la Dirección General de Producción Agraria y Ganadería de la Generalitat Valenciana. Procedimientos: 2014/073; 2014/002/UVEG/018; 2014/051/UVEG/015.

7.1.2. Drogas.

Se diluyó cocaína (Laboratorios Alcaliber S.A., Madrid, Spain) en suero fisiológico (0.1 mg/ml) en un volumen constante (10 ml/kg) para su administración i.p. Las dosis seleccionadas fueron 1, 6, ó 12.5 mg/kg para inducir el CPP según el experimento.

7.1.3. Aparatos.

Inhibición pre-pulso (IPP).

El modelo se fundamenta sobre la idea de que, bajo ciertas condiciones, un estímulo débil (pre-pulso) puede inhibir el reflejo de sobresalto ante un estímulo intenso que se presente posteriormente. Este efecto inhibitor del reflejo de sobresalto que tiene el pre-pulso, de ahí el término de “inhibición pre-pulso”, se utiliza como modelo animal que simula la alteración del mecanismo sensorio-motor presente en la esquizofrenia y en otros trastornos psiquiátricos (Braff y cols., 2008).

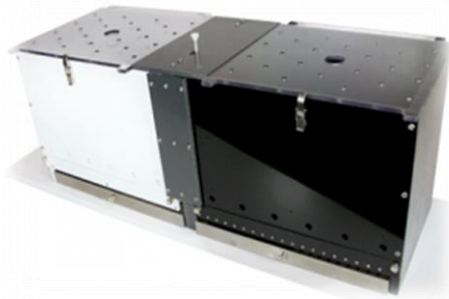
El aparato consiste en una caja de plexiglás (28 x 15 x 17 cm.) con una plataforma que contiene un sensor en su base, de manera que si el animal se mueve se detecta la diferencia en la fuerza ejercida sobre la plataforma. El valor máximo de esta fuerza de transición es la medida de la amplitud de la respuesta de sobresalto. Los movimientos de sobresalto del animal son transducidos por un acelerómetro y la señal es recogida y digitalizada por un microcomputador que también se utiliza para presentar el estímulo y la obtención de los datos. El aparato está situado en una cámara insonorizada (90 x 55 x 60 cm) constantemente iluminada (lámpara de



10w) y equipada con un altavoz localizado en el interior del techo de la caja que produce un sonido constante como ruido de fondo. Dos altavoces de 28 cm localizados a 15 cm de los dos lados de la caja de plexiglás producen los estímulos acústicos. Estos altavoces están conectados a un amplificador que a su vez se conecta a un generador de ruido que administra el estímulo de sobresalto y a un segundo generador de ruido que produce la señal correspondiente al pre-pulso. El aparato (respuesta startle mod. CERS) y programa de recogida de datos fueron adquiridos a la firma CIBERTEC, S.A, Madrid. España.

Condicionamiento de la preferencia de lugar (CPL).

Se utilizaron 12 cajas de condicionamiento de lugar que constan de 2 compartimentos de igual tamaño (30.7 cm x 31.5 cm x 34.5 cm) con diferente color en las paredes (blanco o negro) y diferentes texturas en el suelo (más o menos rugoso), separados por un pasillo central que conecta ambos compartimentos (13.8 cm x 31.5 cm x 34.5 cm). Las cajas están dotadas de infrarrojos para detectar la posición del animal y conectadas a un ordenador que registra el tiempo pasado por el animal en cada compartimento (MONPRE 2Z de CIBERTEC, S.A. Madrid. España).



7.2. Procedimiento.

Tras el periodo de adaptación al animalario (PND 42-49), los animales fueron pesados e identificados con una pintura inocua e indeleble, los machos fueron pintados de azul y las hembras de morado (PND 49-50).

El estudio comenzó realizando la prueba de la Inhibición Pre-pulso (IPP), seguida del Condicionamiento de Preferencia de Lugar (CPL). Se repitió este procedimiento para cada uno de los tres experimentos (**Experimento 1, 2 y 3**) con un nuevo grupo de animales para cada uno de ellos (ver Esquema del procedimiento experimental 1 en la página 85). Después de llevar a cabo cada uno de los ensayos y de las pruebas, los tubos de IPP se limpiaban con 70% de alcohol disuelto en agua entre un animal y el siguiente.

7.2.1. Procedimiento del Experimento 1: CPL inducido con 1mg/kg de cocaína.

Inhibición pre-pulso (IPP)

La prueba se realizó en tres sesiones siguiendo el protocolo de Valsamis y Schmid (2011), donde en la primera *fase de aclimatación al programa* se colocaba a cada ratón dentro del aparato (en el tubo) para que se habituase durante unos 5 min con un ruido de fondo pero sin estímulo de sobresalto (PND 51). El tubo se limpiaba cada vez que se cambiaba al animal. La sesión del programa denomina *fase de entrada/salida* (PND 52) nos permitió establecer el sobresalto del animal y así determinar qué estímulo utilizábamos como estímulo principal (120 dB), siendo éste el valor (respuesta de sobresalto) que llegaba a un punto de máxima amplitud de la respuesta produciendo una meseta entre las respuestas a los estímulos. El estímulo empezaba con 70-75 dB e iba subiendo de 5 en 5 cada estímulo hasta llegar a 120 dB. Con una duración de 20 ms y un tiempo entre estímulos (ITI base) de 20 segundos, es decir, cada estímulo/ensayo se producía cada 20 seg. El ruido de fondo era de 65 dB, con 5 minutos de periodo de adaptación y con un total 21 estímulos/ensayos.

Teniendo en cuenta estudios piloto previos, consideramos utilizar una duración muy corta del pre-pulso (4 ms) y medir intervalos cortos, de esta manera podíamos variar los tiempos entre

estímulos (ITI: 30 y 100) y la sesión de la prueba no era demasiado larga. Sabemos que la eficacia del pre-pulso parece disminuir por esa duración tan corta comparada con 20 ms de pre-pulso del mismo volumen. Por lo tanto, utilizamos pre-pulsos de intensidad alta como son 75dB y 85dB con un tiempo de 4 ms ya que no suelen producir una respuesta de sobresalto por si solos (Valsamis y Schmid, 2011). Además, se conoce que un pre-pulso de 85dB produce un máximo de IPP de un 90% y se recomienda utilizar uno de 75dB que provoca solamente entre un 50-60% de IPP (Valsamis y Schmid, 2011).

Así mismo, utilizamos un ITI de 30 y otro de 100. La IPP en humanos se mide originalmente con un ITI de 100 ms donde su efecto es máximo en este valor. En ratas y ratones, el máximo de la IPP es 30-50 ms, debido probablemente a que su cerebro es más pequeño. Estos dos intervalos nos permiten además comparar entre estudios que utilizan diferentes tiempos. La elección de los tiempos se realiza en función de qué queremos medir o si queremos comparar con otros estudios, por lo que elegimos los más utilizados.

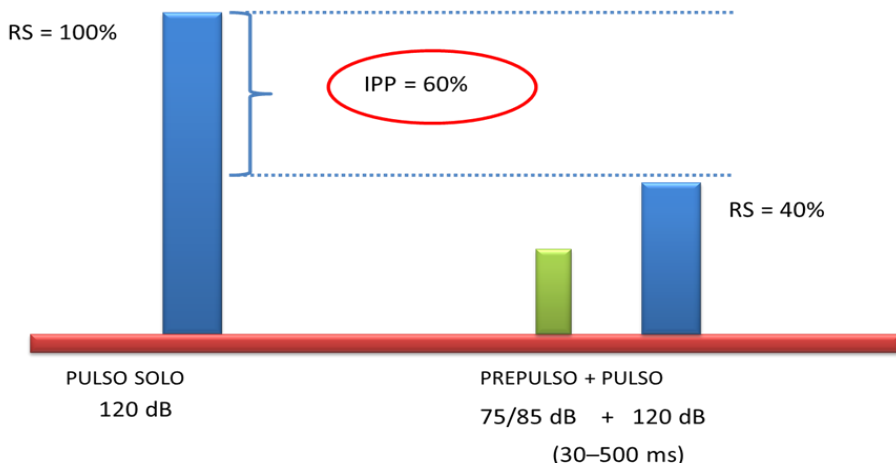


Figura 4. Respuesta de sobresalto e inhibición pre-pulso de la respuesta de sobresalto a un estímulo acústico con pulso de 120db y pre-pulsos de 75 y 85 dB de entre 30 y 500 ms.

Estudio 1: IPP y CPL

La tercera sesión del programa se denomina *fase de Aclimatación + Bloque I + Bloque II* (PND 53-56). La aclimatación fue de 5 minutos con un ruido de fondo de 65dB y sin ningún estímulo más. En el Bloque I se pretendió evaluar la habituación corta del animal. Se utilizó como estímulo principal el pulso de 120 dB, ya que fue el valor máximo que alcanzó la respuesta de sobresalto en la fase de entrada/salida para cada sexo. Con un total de 50 estímulos/ensayos de 20 ms y una duración ITI base de 20 segundos.

En último lugar, se realizó el Bloque II, en el cual evaluaba la inhibición de la respuesta de sobresalto con el pre-pulso (IPP) propiamente dicha. Para ello, se pseudo-aleatorizaron los ensayos con el estímulo principal solo (pulso) y los ensayos con estímulo auxiliar (pre-pulso) y estímulo principal. El ruido de fondo y el estímulo principal fue el mismo que en el Bloque I y la duración del pre-pulso fue de 4 ms. Se utilizaron dos pre-pulsos, uno de 75 dB y otro de 85 dB, y dos tipos de intervalos entre el estímulo principal (pulso) y el auxiliar (pre-pulso) de 30 ms y 100 ms. Además, añadimos los pre-pulsos de 75 dB y 85 dB como pulsos solos con una duración de 20 ms al igual que el estímulo principal, para comprobar que no actuaban como pulsos y por tanto como posibles distorsionadores de la IPP, ya que esta función está determinada por el pulso de mayor dB que es el estímulo principal (120 dB).

En total se aleatorizaron 10 ensayos con sólo el estímulo principal de 120 dB (estos ensayos igual que los que creamos en el bloque I) + 10 ensayos IPP de 75 dB y 30 ms + 10 ensayos de 75 dB y 100 ms + 10 ensayos de 85 dB y 30 ms + 10 ensayos de 85 dB y 100 ms. Así, se obtuvieron las siguientes medidas del porcentaje (%) de inhibición pre-pulso según los diferentes pre-pulsos: (a) Pre-pulso 75 dB con ITI de 30 ms (PP75ITI30), (b) Pre-pulso 75 dB con ITI de 100 ms (PP75ITI100), (c) Pre-pulso 85 dB con ITI de 30 ms (PP85ITI30), y (d) Pre-pulso 85 dB con ITI de 100 ms (PP85ITI100).

Condicionamiento de la preferencia de lugar (CPL)

El procedimiento que hemos seguido es el que hemos realizado en nuestro laboratorio desde hace años (ver Manzanedo y cols., 2001; 2012), denominado “no sesgado” (*unbiased*), contrabalanceado en términos de la preferencia inicial y del procedimiento de administración de los fármacos.

Al día siguiente de realizar la prueba de la IPP iniciamos la prueba del CPL. Antes de comenzar esta prueba, los animales fueron aclimatados al experimentador durante tres días (*handling*, PND: 57-59). La adquisición del CPL constaba de tres fases. En la primera fase, llamada de pre-condicionamiento (Pre-C), los animales tenían libre acceso a los compartimentos durante 15 minutos (900 segundos) realizándose en dos días consecutivos. El tercer día (PND: 62), se realizó la misma prueba que los días anteriores pero en este caso se registró el tiempo que pasaban los animales en cada uno de los compartimentos. Los animales que mostraron una fuerte aversión (menos de 250 s) o preferencia (más de 650 s) por alguno de los compartimentos fueron descartados del experimento. Así, el número de animales de los grupos experimentales resultantes en este primer experimento fue: **Experimento 1** (Machos %IPP Menor n=8, Machos %IPP Mayor n=10; Hembras %IPP Menor n=8, Hembras %IPP Mayor n=11). Se contrabalanceó la asociación entre el fármaco y el compartimento. Después de la asignación de compartimentos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para comprobar que no existían diferencias significativas en la fase de pre-condicionamiento entre el tiempo de permanencia en el lugar que se posteriormente se apareará con el fármaco o con el vehículo. Este es un paso importante en el procedimiento experimental que evita cualquier preferencia antes de iniciar el condicionamiento.

La segunda fase es la denominada condicionamiento y duró cuatro días (PND 63-66). Los animales recibieron una inyección de suero fisiológico antes de ser confinados durante treinta minutos en el

compartimento elegido para ser asociado con el vehículo. Tras un intervalo de cuatro horas, recibieron una inyección de cocaína (Experimento 1: 1 mg/kg) antes de ser confinados en el compartimento elegido para ser asociado con la droga. La tercera fase, llamada post-condicionamiento o test (Post-C), consiste en registrar el tiempo que el animal, libre de cualquier tratamiento, pasaba en cada compartimento durante 900 segundos (PND 67).

La diferencia entre el tiempo (en segundos) de permanencia en el compartimento asociado con la droga entre el día de Pre-C y del Post-C se considera una medida del grado de preferencia inducida por la cocaína. Si se observaba una diferencia positiva significativa, consideramos que la cocaína había inducido una preferencia por el compartimento asociado a la droga, mientras que si no ocurría tal incremento indicaba que no se había adquirido el CPL, y si se producía el efecto opuesto indicaba que la droga había producido aversión.

En aquellos grupos que presentaron un CPL inducido por la cocaína se procedió a realizar la extinción de la preferencia de lugar; conseguida la cual se realizó la reinstauración del CPL con una dosis *priming* de cocaína. De esta forma, los grupos condicionados con cocaína fueron sometidos a una extinción a la semana que consistía en colocar al animal dentro de la caja durante 15 minutos y sin guillotinas que separasen los compartimentos. Entendíamos que la preferencia se había extinguido cuando durante dos sesiones consecutivas no existían diferencias significativas entre las puntuaciones del Pre-C y de la sesión de Extinción en cada grupo, y al mismo tiempo sí que se observaba una diferencia significativa entre las puntuaciones del Post-C y de la Extinción. Por lo tanto, todos los animales de cada grupo realizaron el mismo número de sesiones de extinción independientemente de sus puntuaciones individuales. A las 24h se evaluó si se producía la reinstauración de la preferencia con una dosis *priming* de cocaína (la mitad de la dosis administrada durante el

condicionamiento previo). El test de reinstauración se realizó igual que el descrito el día del Post-C (libre deambulación por la caja durante 15 min), excepto que 15 min antes se les administró a los animales la dosis de cocaína y en un lugar no contingente al lugar del condicionamiento. Si el grupo había reinstaurado la preferencia, se procedía a su extinción nuevamente realizando el mismo proceso descrito anteriormente. Una nueva reinstauración con dosis cada vez más bajas de cocaína (la mitad de la dosis anterior) se indujo tras cada extinción de la preferencia, hasta que no se observó reinstauración de la preferencia en el grupo.

7.2.2. Procedimiento del Experimento 2: CPL inducido con 6mg/kg de cocaína.

Inhibición pre-pulso (IPP)

La IPP se realizó utilizando el mismo procedimiento mostrado en el Experimento 1 con un nuevo grupo de animales.

Condicionamiento de la preferencia de lugar (CPL)

El procedimiento que seguimos para realizar el CPL fue el mismo que el mostrado en el Experimento 1. Del mismo modo, después de realizar la última sesión de Pre-C y su posterior registro del tiempo de permanencia en cada compartimento, los animales que mostraron una fuerte aversión (menos de 250 s) o preferencia (más de 650 s) por alguno de los compartimentos fueron descartados del experimento. Así en este experimento, el número de animales resultante fue el siguiente: **Experimento 2** (Machos %IPP Menor n=9, Machos %IPP Mayor n=10; Hembras %IPP Menor n=9, Hembras %IPP Mayor n=14). Y la dosis de cocaína utilizada en la fase de Condicionamiento fue de **6 mg/kg**.

7.2.3. Procedimiento del Experimento 3: CPL inducido con 12.5 mg/kg de cocaína.

Inhibición pre-pulso (IPP)

La IPP se realizó utilizando el mismo procedimiento mostrado en el Experimento 1 con un nuevo grupo de animales.

Condicionamiento de la preferencia de lugar (CPL)

El procedimiento que seguimos para realizar el CPL fue el mismo que el mostrado en el Experimento 1. Del mismo modo, después de realizar la última sesión de Pre-C y su posterior registro del tiempo de permanencia en cada compartimento, los animales que mostraron una fuerte aversión (menos de 250 s) o preferencia (más de 650 s) por alguno de los compartimentos fueron descartados del experimento. Así en este experimento, el número de animales resultante fue el siguiente: **Experimento 3** (Machos %IPP Menor n=12, Machos %IPP Mayor n=14; Hembras %IPP Menor n=8, Hembras %IPP Mayor n=15). Y la dosis de cocaína utilizada en la fase de Condicionamiento fue de **12.5 mg/kg**.

7.3. Análisis Estadísticos.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS (IBM SPSS Statistics versión 19).

El análisis de los resultados de la IPP se realizó con los datos obtenidos del Bloque II en la tercera fase. Los datos fueron ordenados según el tipo de ensayo (p.ej. exportando los datos relevantes en columnas de Excel y clasificando cada columna por la intensidad y duración ITI de cada pre-pulso). Luego se realizó el promedio de los diez resultados por tipo de ensayo y el resultado de los ensayos ordenados por pre-pulso se dividió por el resultado obtenido sin el pre-pulso (pulso solo) y multiplicado por 100. Este resultado nos

indicaba la cantidad de sobresalto restante (porcentaje de sobresalto base) bajo diferentes tipos de pre-pulso para cada animal, donde el sobresalto basal (pulso solo) era el 100%. Este cálculo nos permitió conocer el porcentaje de IPP (%IPP) de la respuesta de sobresalto de cada animal.

$$\%IPP = 100 - (100 * \text{PRE-PULSO} + \text{PULSO SOLO} / \text{PULSO SOLO})$$

Para la distribución de los animales dentro de cada sexo según fuese su mayor o menor IPP, realizamos un análisis de conglomerados de K medias (cluster) utilizando el promedio del porcentaje de los 4 resultados obtenidos en la IPP (%IPP) de cada animal, con el fin de dividir a los animales en altos o bajos inhibidores (Navarro-Francés and Arenas, 2014), es decir, aquellos que tenían un mayor o un menor %IPP según el resultado obtenido en el promedio del porcentaje de las 4 medidas de IPP. El centro de los grupos o clusters se calculó por separado según el sexo, con el propósito de conseguir una distribución igual en machos y hembras de cada grupo de IPP.

Realizamos un ANOVA de un factor (Sexo) con la variable dependiente (%IPP) para comprobar si había diferencias entre los sexos en la IPP en cada Experimento.

Para conocer las diferencias en el condicionamiento (llamado en inglés *conditioning score*), realizamos un ANOVA de un factor de la diferencia entre el Post-C y Pre-C con dos variables inter: Sexo con dos niveles (machos y hembras) e IPP con dos niveles (mayor y menor IPP según la distribución en cada sexo del *cluster* de la media del porcentaje de los 4 resultados obtenidos en la IPP).

Para saber si existían diferencias entre los grupos en la adquisición del condicionamiento realizamos un ANOVA de medidas repetidas con dos variables enter (Sexo e IPP) y una intra (Días: Pre-C y Post-C).

Estudio 1: IPP y CPL

Para evaluar las extinciones de la preferencia se realizaron distintas ANOVAs para las extinciones, reinstauraciones y siguientes extinciones: con una variable enter (IPP) y una intra (Días: Ext, Reinstauración) de cada sexo y para cada experimento.

Para realizar las comparaciones post-hoc se utilizó la prueba de Bonferroni.

En el Experimento 3, para analizar las diferencias entre los grupos en el tiempo que tardan en extinguir la preferencia realizamos el Test de Kaplan-Meier con la prueba de Breslow (Generalized Wilcoxon) cuando las comparaciones post-hoc fueron oportunas. En esta prueba se utilizan dos valores o medidas, una variable dicotómica, ha extinguido o no para cada ratón, y otra variable de tiempo de supervivencia (número de sesiones que tarda en extinguir cada animal). Aunque la media del grupo en conjunto determinaba el día que se extinguía la preferencia, con esta prueba se establece la extinción de cada animal. Cuando el ratón hubiese permanecido 380 segundos o menos en el compartimento asociado a la droga durante dos días consecutivos, considerábamos que el animal había extinguido la preferencia condicionada. La elección de este tiempo vino determinada por el valor obtenido de todo el conjunto de puntuaciones en el test de Pre-C del estudio (media=367). Cuando un animal no llegaba a extinguir la preferencia, se le asignó el número de sesiones que necesitó el grupo entero para extinguir.

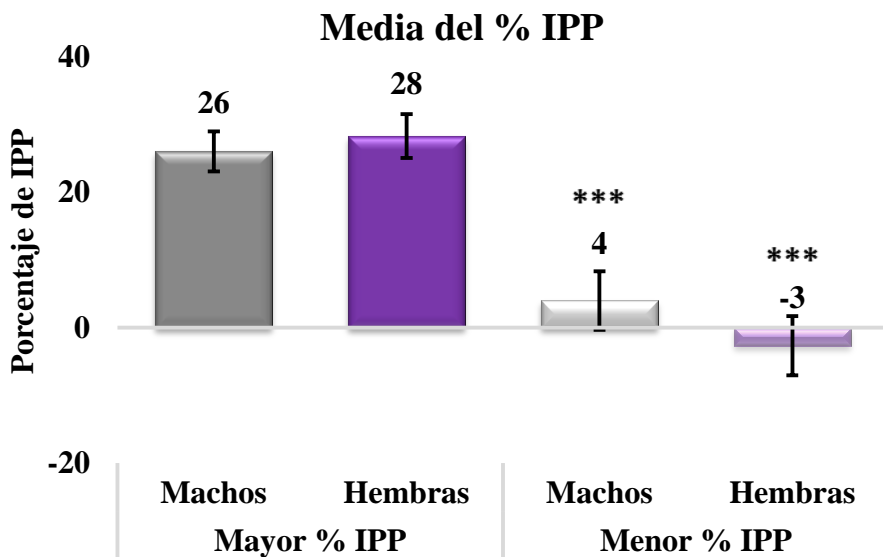
Finalmente, para evaluar si existían diferencias en la adquisición del CPL entre los animales con mayor o menor IPP, así como diferencias de sexo entre los grupos de los tres CPL (1, 6, 12.5 mg/kg de cocaína) realizamos un ANOVA de medidas repetidas con tres variables enter: Sexo (machos y hembras), IPP (mayor y menor), y Dosis (1, 6, 12.5 mg/kg de cocaína); y una variable intra (Días: test Pre-C, test Post-C).

7.4. Resultados.

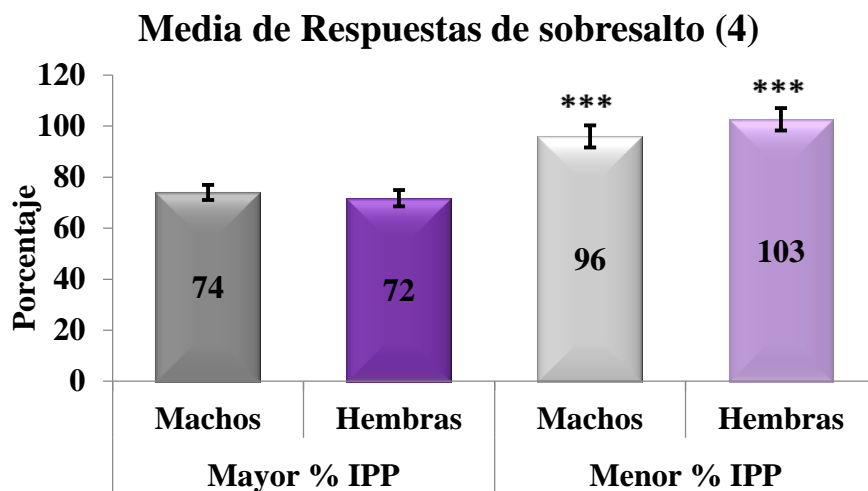
7.4.1. Resultados del Experimento 1: CPL inducido con 1mg/kg de cocaína.

Resultados en la IPP.

La distribución significativa de los cuatro grupos animales con el análisis de conglomerado de K medias (*cluster*) según la media del porcentaje de los 4 resultados obtenidos en la IPP se puede observar en la Tabla 3. **Machos:** [F(1,17)=22.023;p<0.0001]; **Hembras:**[F(1,22)=36.202; p<0.0001] (ver Gráfica 1 y 2).



Gráfica 1. Distribución de la muestra según %IPP (*cluster*). *** p<0.0001 Mayor %IPP vs. Menor %IPP.



Gráfica 2. Distribución de la muestra según %IPP (*cluster*) de las 4 respuestas de sobresalto utilizadas en la prueba. *** $p < 0.0001$ Mayor %IPP vs. Menor %IPP.

El resultado de la distribución de los animales según su IPP realizada con el *cluster* se muestra en la Tabla 3.

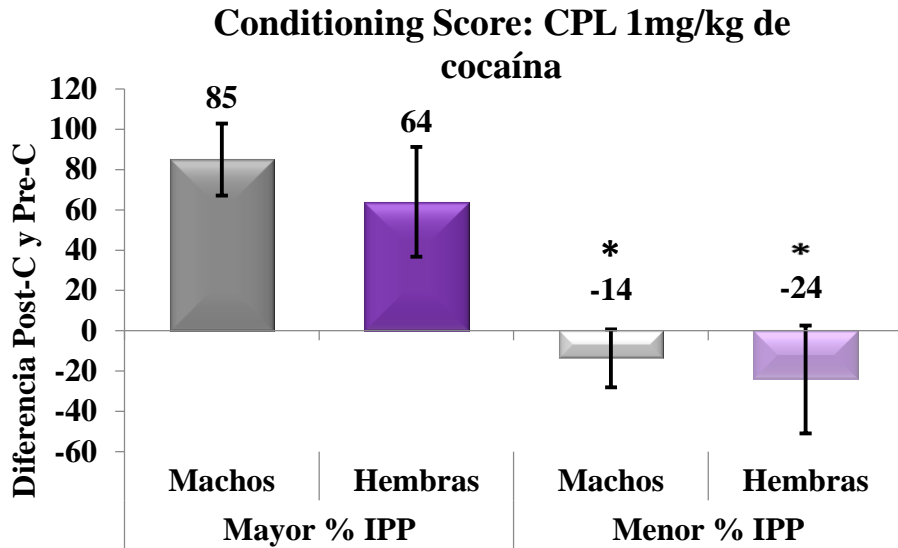
EXPERIMENTO 1				
Sexo	Machos		Hembras	
%IPP	Mayor	Menor	Mayor	Menor
n	11	8	15	9
X	26	4	28	-3

Tabla 3. Distribución de los animales según su IPP (*Cluster*).

El análisis de la ANOVA de un factor (sexo) con la variable dependiente %IPP reveló que no existían diferencias de sexo en la IPP [$F(1,41) < 1$; n.s.].

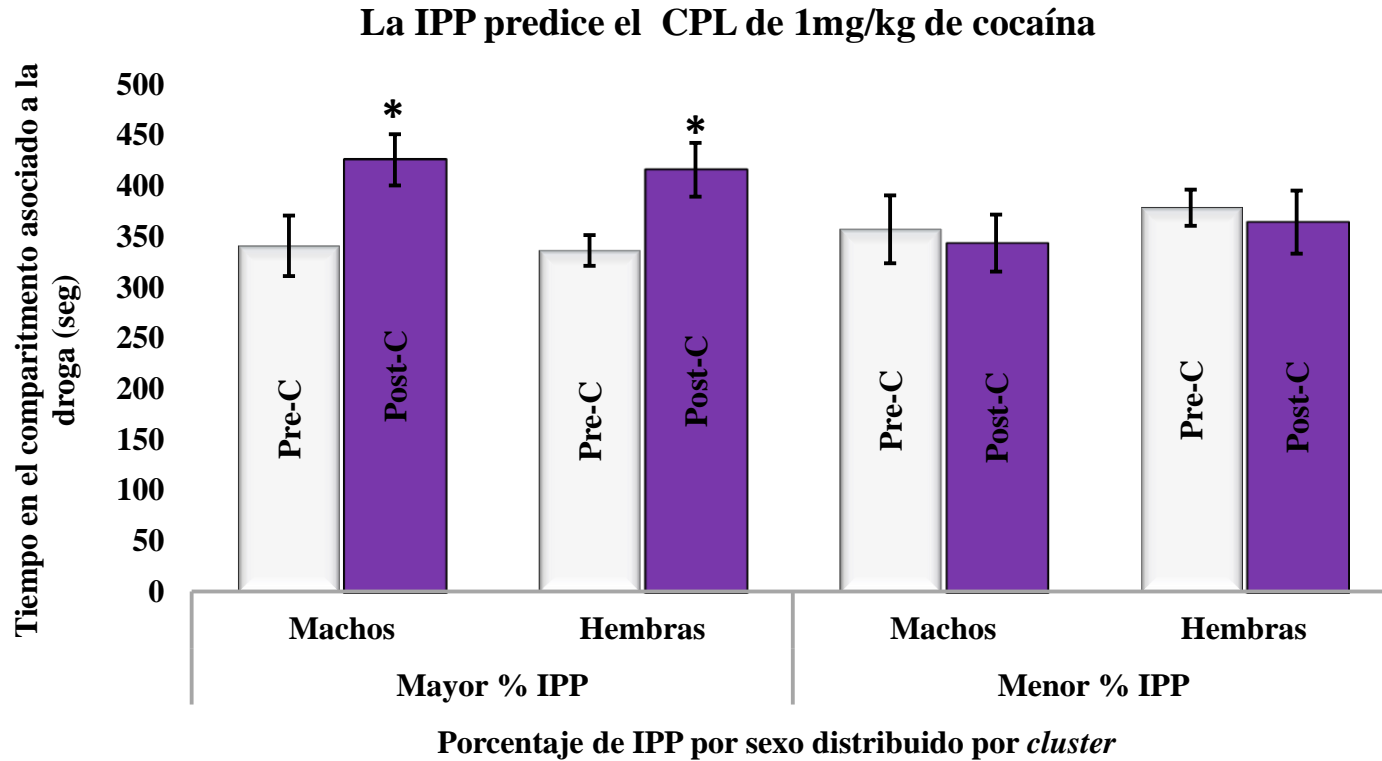
Resultados en el CPL

El ANOVA realizado para conocer el *Conditioning Score* muestra que existen diferencias entre los grupos de IPP en cada sexo porque muestran preferencia solamente los grupos de mayor IPP; Machos: [F(1,17)=17.191; $p < 0.001$], Hembras: [F(1,20)=4.923; $p < 0.038$] (ver Gráfica 3).



Gráfica 3. *Conditioning Score*: diferencia entre Pre-C y Post-C en cada sexo distribuido por su mayor o menor IPP. * $p < 0.05$ Mayor %IPP vs. Menor %IPP.

El ANOVA del CPL nos muestra que hay un efecto significativo en la variable Días [F(1,33)=7.645; $p < 0.009$] y en la interacción Días x IPP [F(1,33)=15.180; $p < 0.0001$]. En concreto observamos que los grupos de mayor IPP se diferencian significativamente de los grupos de menor IPP en el incremento el tiempo en el compartimento asociado a la droga el día del Post-C ($p < 0.022$). Dado que solamente muestran preferencia los grupos de mayor IPP ($p < 0.0001$). Por el contrario, no observamos diferencias de sexo en ningún grupo de animales (ver Gráfica 4).

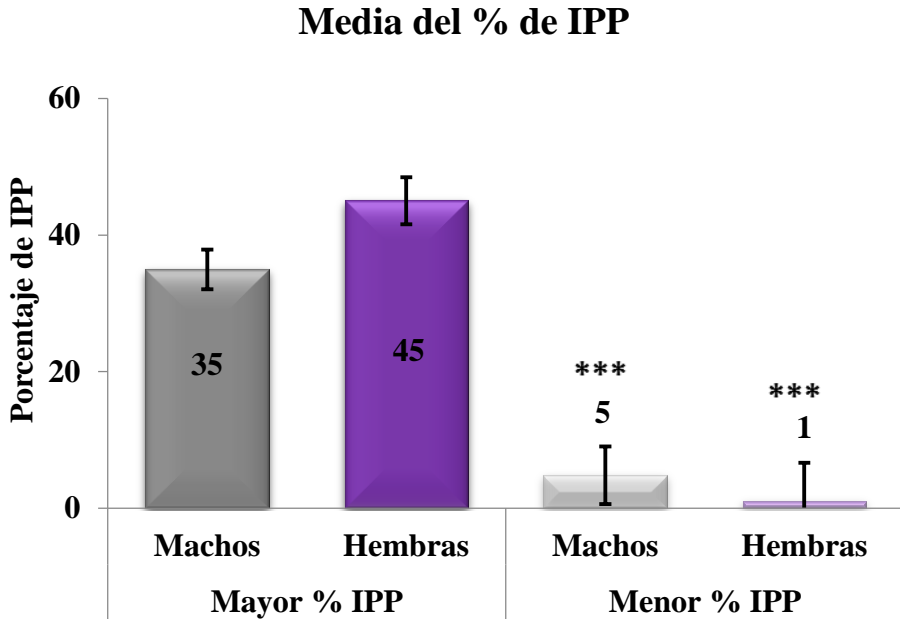


Gráfica 4. ANOVA de medidas repetidas: Pre-Condicionamiento y Post-Condicionamiento. * $p < 0.05$ Pre-C vs. Post-C.

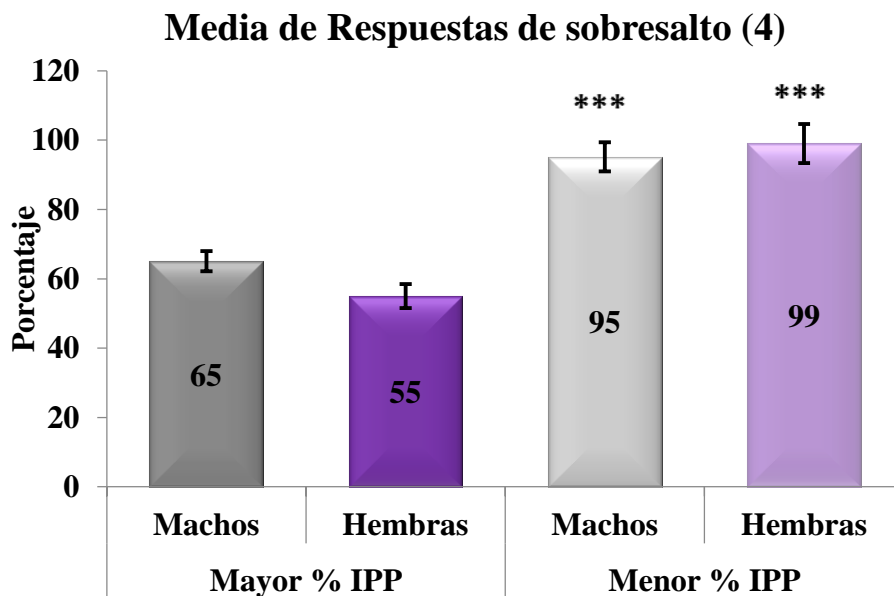
7.4.2. Resultados del Experimento 2: CPL inducido con 6mg/kg de cocaína.

Resultados en la IPP.

La distribución significativa de los cuatro grupos de animales con el análisis de conglomerado de K medias (*cluster*) según la media del porcentaje de los 4 resultados obtenidos en la IPP se puede observar en la Tabla 4. **Machos:** [F(1,23)=39.543; p<0.0001]; **Hembras:** [F(1,21)=54.130; p<0.0001] (ver Gráficas 5 y 6).



Gráfica 5. Distribución de la muestra según % IPP (*cluster*).
 *** p<0.0001 Mayor %IPP vs. Menor %IPP



Gráfica 6. Distribución de la muestra según %IPP (*cluster*) de las 4 respuestas de sobresalto utilizadas en la prueba. *** $p < 0.0001$ Mayor %IPP vs. Menor %IPP.

El resultado de la distribución de los animales según su IPP realizada con el *cluster* se muestra en la Tabla 4.

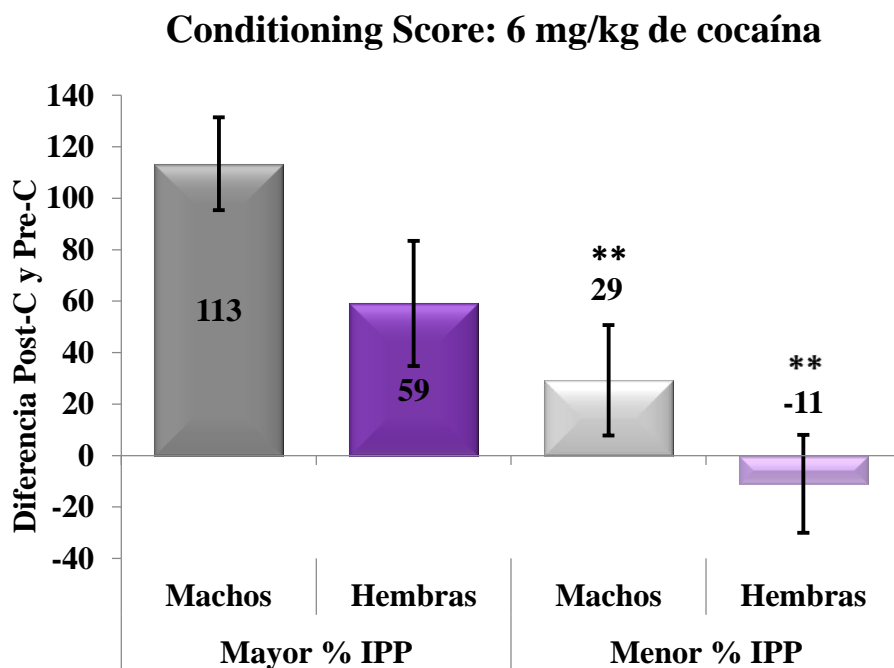
EXPERIMENTO 2				
Sexo	Machos		Hembras	
%IPP	Mayor	Menor	Mayor	Menor
n	16	9	14	9
X	35	5	45	1

Tabla 4. Distribución de los animales según su IPP (*Cluster*).

El análisis de la ANOVA de un factor (sexo) con la variable dependiente %IPP reveló que no existían diferencias de sexo en la IPP [F(1,41)<1; n.s.].

Resultados en el CPL

El ANOVA realizado para conocer el *Conditioning Score* muestra que existen diferencias entre los grupos de IPP en cada sexo porque presentan preferencia solo los grupos de mayor IPP [Machos: F(1,17)=9.173; p<0.008; Hembras: F(1,21)=54.130; p<0.0001] (ver Gráfica 7).

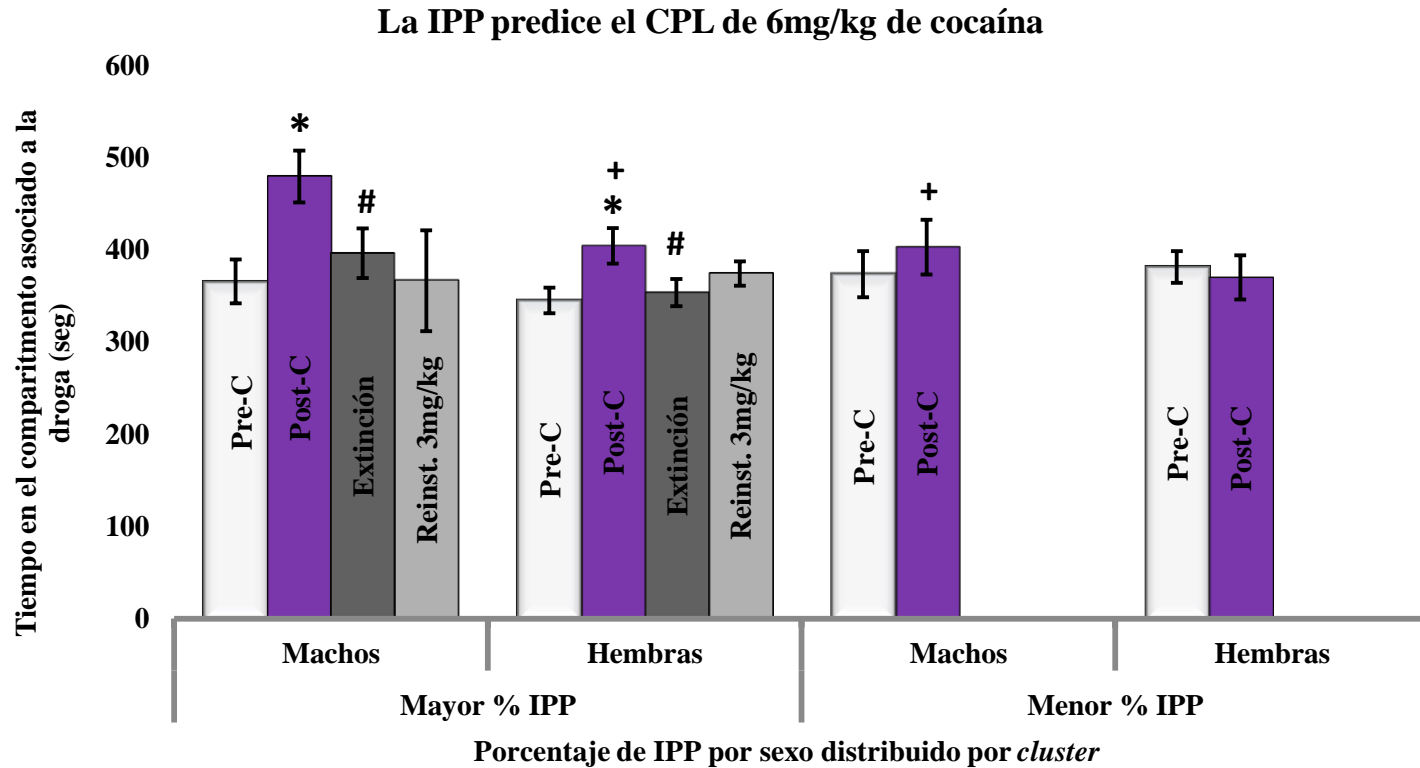


Gráfica 7. *Conditioning Score*: diferencia entre Pre-C y Post-C en cada sexo distribuido por su mayor o menor IPP. **p<0.01 Mayor %IPP vs. Menor %IPP.

Así mismo el ANOVA del CPL medidas repetidas (Pre-C y Post-C) de los dos sexos juntos muestra que hay diferencias significativas en la interacción Días x IPP [$F(1,38)= 11.756$; $p<0.001$], en concreto observamos las diferencias en el día del Post-C entre los grupos de mayor y menor IPP, siendo mayor el tiempo que pasan en el compartimento asociado a la droga en los primeros ($p<0.034$). Solamente los machos y las hembras de mayor IPP son los que muestran un aumento significativo en el tiempo del día del Post-C respecto al del Pre-C [Hembras: $F(1,38)=9.478$; $p<0.004$; Machos: $F(1,38)=24.967$; $p<0.0001$], es decir, incrementan el tiempo en el compartimento asociado a la cocaína, lo cual indica que muestran preferencia por el lugar asociado a la droga. También observamos diferencias entre los machos de mayor y menor IPP en el día del Post-C [$F(1,38)=4.322$; $p<0.044$], donde los primeros muestran una mayor preferencia que los segundos. Así mismo, encontramos diferencias en la interacción Días x Sexo [$F(1,38)= 4.413$; $p<0.042$]. Donde se observa que los machos en general muestran una mayor puntuación en el tiempo que pasa en el compartimento asociado a la droga en el día del Post-C que las Hembras ($p<0.039$). Concretamente los machos de mayor IPP en el día del Post-C permanecen más tiempo en éste compartimento que las hembras [$F(1,38)=5.134$; $p<0.029$].

Los resultados de los ANOVAs para las extinciones y las recaídas muestran que los dos grupos de mayor IPP extinguen el CPL [Machos Mayor IPP: Pre-C vs. Extinción1: $F(1,16)= 1.240$; n.s; Post-C vs. Extinción1: $F(1,16)= 9,385$; $p<0,007$; Hembras Mayor IPP: Pre-C vs. Extinción1: $F(1,21)=0.220$; n.s; Post-C vs. Extinción1: $F(1,21)=4.398$; $p<0.048$].

Ninguno de los grupos de animales de mayor IPP que extinguieron la preferencia, reinstauraron con 3.12 mg/kg de cocaína [Machos: Extinción 1 vs. Reinstauración 3.12: $F(1,16)=1.240$; n.s; Hembras: Extinción 1 vs. Reinstauración 3.12: $F(1,21)=1.767$; n.s] (ver Gráfica 8).

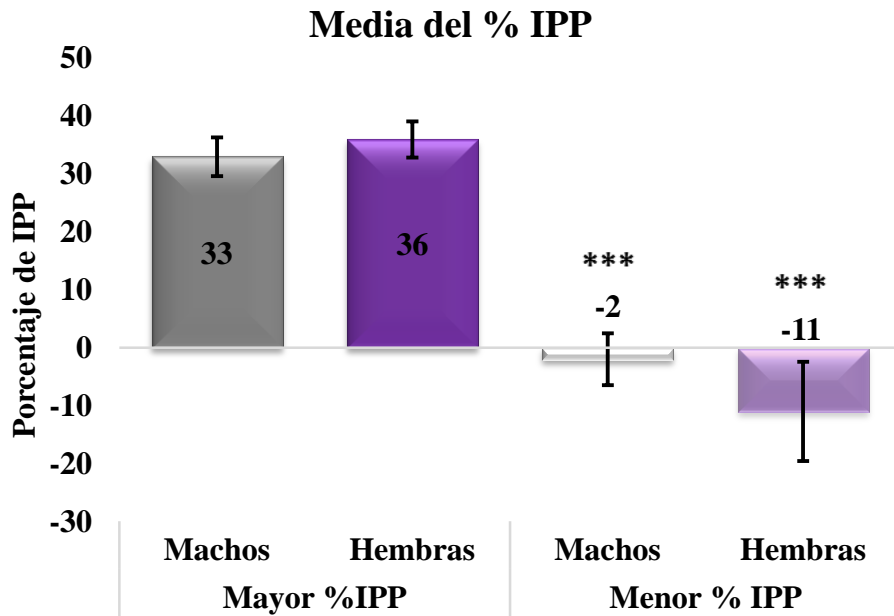


Gráfica 8. ANOVA de medidas repetidas: Pre-C y Post-C, Extinción, Reinstauración. * $p < 0.05$ vs. Pre-C, # $p < 0.05$ vs. Post-C, + $p < 0.05$ vs. Machos Mayor % IPP.

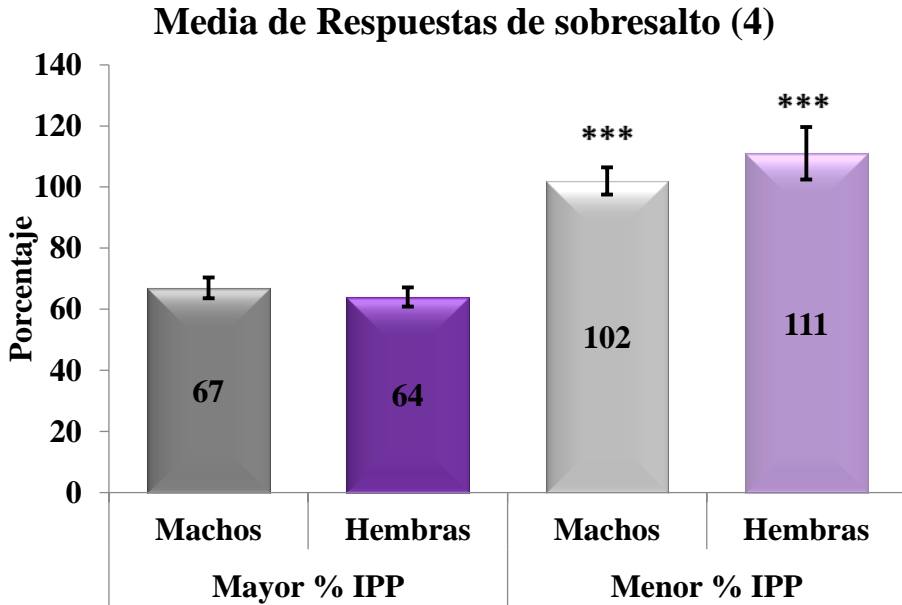
7.4.3. Resultados de Experimento 3: CPL inducido con 12.5mg/kg de cocaína.

Resultados en la IPP.

La distribución significativa de los cuatro grupos de animales con el análisis de conglomerado de K medias según la media del porcentaje de los 4 resultados obtenidos en la IPP se puede observar en la Tabla 5. **Machos:** [F(1,24)=44.183; p<0.0001]; **Hembras:** [F(1,25)=44.511; p<0.0001] (ver Gráficas 9 y 10).



Gráfica 9. Distribución de la muestra según % IPP (*cluster*).
*** p<0.0001 Mayor %IPP vs. Menor %IPP.



Gráfica 10. Distribución de la muestra según %IPP (*cluster*) de las 4 respuestas de sobresalto utilizadas en la prueba. *** $p < 0.0001$ Mayor %IPP vs. Menor %IPP.

El resultado de la distribución de los animales según su IPP realizada con el *cluster* se muestra en la Tabla 5.

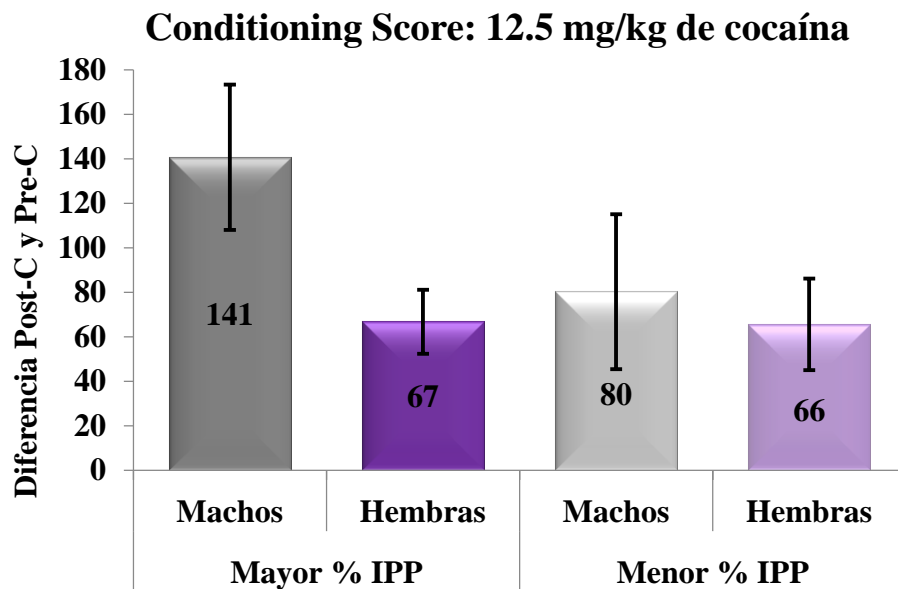
EXPERIMENTO 3				
Sexo	Machos		Hembras	
%IPP	Mayor	Menor	Mayor	Menor
n	14	12	16	11
\bar{X}	36	-2	36	-11

Tabla 5. Distribución de los animales según su IPP (*Cluster*).

El análisis del ANOVA de un factor (sexo) con la variable dependiente %IPP reveló que no existían diferencias de sexo en la IPP [F(1,51)<1; n.s.].

Resultados en el CPL

El ANOVA realizado para conocer el *Conditioning Score* muestra que no existen diferencias entre los grupos de IPP en cada sexo porque muestran preferencia todos los grupos [Machos: F(1,24)=1.600; n.s.; Hembras: F(1,25)=0.002; n.s.] (ver Gráfica 11).



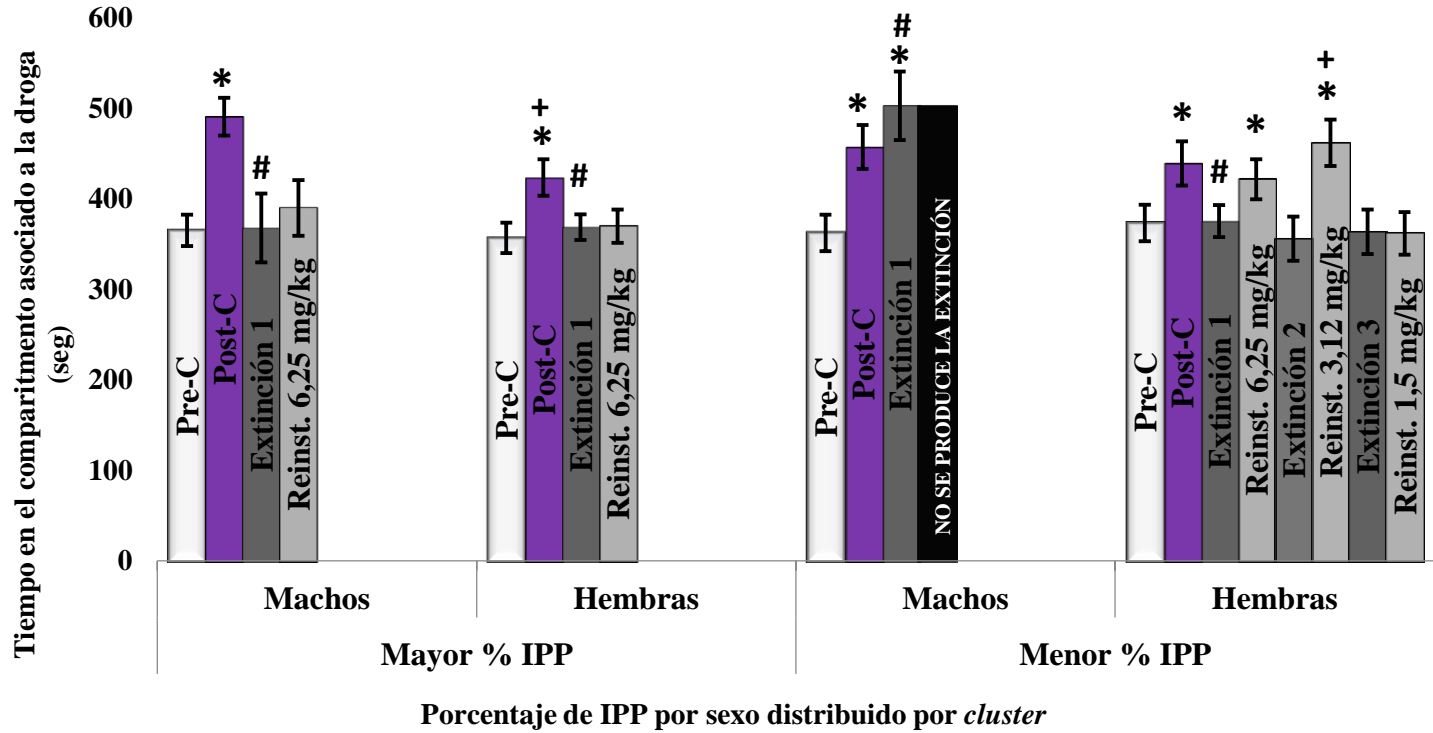
Gráfica 11. *Conditioning Score*: diferencia entre Pre-C y Post-C en cada sexo distribuido por su mayor o menor IPP. No existen diferencias entre los grupos por sexo.

El ANOVA del CPL nos muestra que hay un efecto significativo en la variable Días [F(1,49)=41.983; p<0.0001], indicando que todos los grupos de animales han incrementado significativamente el tiempo

en el compartimento asociado a la droga el día del post-condicionamiento en comparación con el Pre-C. Y así mismo observamos diferencias de sexo en el día del Post-C en los animales de mayor IPP ($p < 0.024$), ya que los machos muestran una mayor puntuación en día del Post-C que las hembras.

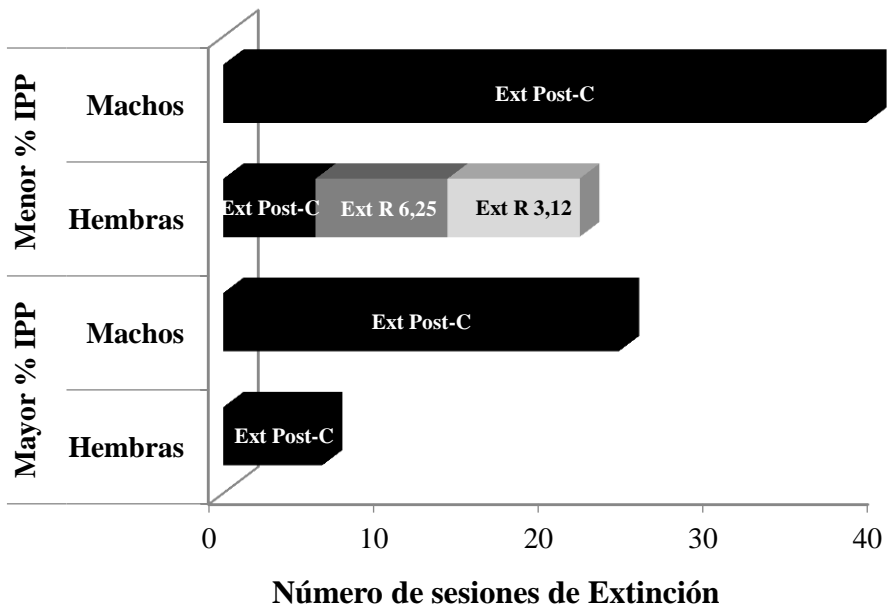
Los resultados de los ANOVAs para las extinciones y las recaídas muestran que todos los grupos extinguen el CPL [Machos Mayor IPP: Pre-C vs. Extinción1: $F(1,23)=0.144$; n.s.; Post-C vs. Extinción1: $F(1,23)=7.349$; $p < 0.012$; Hembras Mayor IPP: $F(1,25)=0.452$; n.s.; Hembras Menor IPP: $F(1,25)=0.002$; n.s.] a excepción de los machos de menor IPP que tras 39 sesiones semanales no mostraron una disminución significativa de la preferencia [Pre-C vs. Extinción1: $F(1,23)= 13.859$; $p < 0.0001$; Post-C vs. Extinción1: $F(1,23)= 0.877$; n.s]. Observamos por ello diferencias en el día de la extinción1 entre los grupos de machos con mayor y menor IPP [$F(1,23)= 6.816$; $p < 0.016$]. De todos los grupos de animales que extinguieron la preferencia, reinstauran con 6.25 mg/kg de cocaína las hembras de menor IPP [Menor IPP: $F(1,25)=3.988$; $p < 0.05$], no reinstaurando los machos [Mayor IPP: $F(1,13)=2.430$; n.s] y las hembras de mayor IPP [Mayor IPP: $F(1,25)=0.002$; n.s]. Sin embargo, las hembras de menor IPP extinguen por segunda vez [Pre-C vs. Extinción 2: $F(1,10)=0.543$; n.s], reinstauran la preferencia con 3.12 mg/kg de cocaína [Extinción 2 vs. Reinstauración 3.12: $F(1,10)=26.492$; $p < 0.001$], vuelven a extinguir [Pre-C vs. Extinción3: $F(1,9)=0.346$; n.s] y ya no reinstauran con 1.5 mg/kg de cocaína [Extinción3 vs. Reinstauración 1.5: $F(1,9)=0.004$; n.s] (ver Gráfica 12).

La IPP predice el CPL de 12.5mg/kg de cocaína

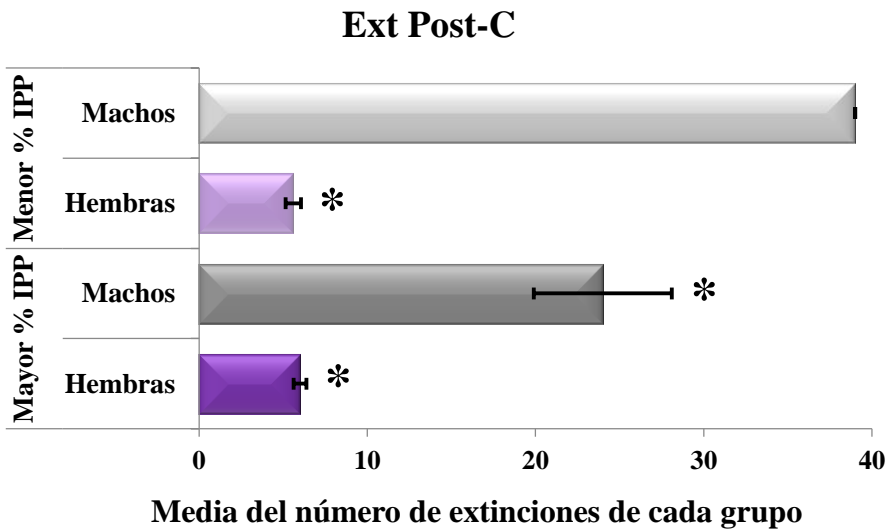


Gráfica 12. ANOVA de medidas repetidas: Pre-C y Post-C, Extinción, Reinstauración. *p<0.05 vs. Pre-C, #p<0.05 vs. Post-C, +p<0.05 vs. Machos Mayor % IPP.

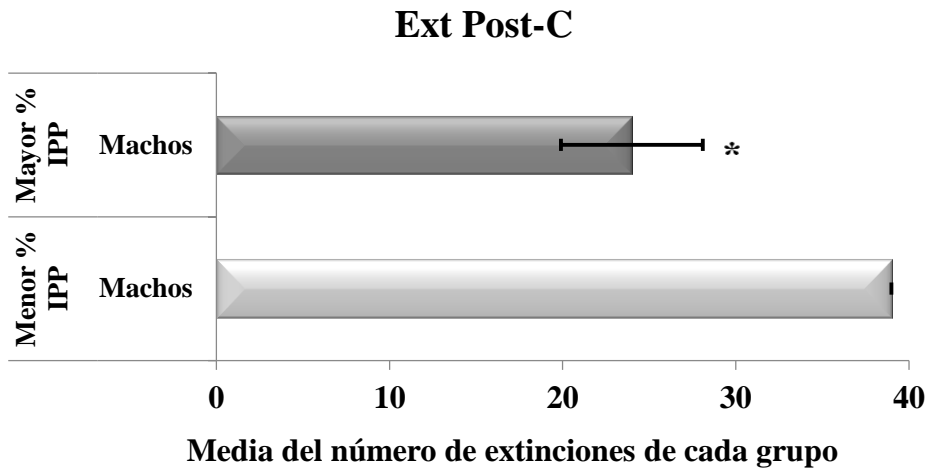
Los análisis realizados con el Test de Kaplan-Meier con los datos obtenidos después del Post-C para cada animal de cada grupo, revelaron que los machos en general necesitaron más tiempo o sesiones que las hembras para extinguir el condicionamiento (Machos vs. Hembras: $\chi^2=6.973$; $p < 0.008$). Los machos de menor IPP necesitaron más tiempo para extinguir la preferencia que el resto de grupos (vs. Mayor IPP: $\chi^2=10.194$; $p < 0.0001$; vs. Hembras Mayor IPP: $\chi^2=21.170$; $p < 0.008$; vs. Hembras Menor IPP: $\chi^2=19.167$; $p < 0.005$). Por el contrario, no encontramos diferencias entre las hembras de mayor y menor IPP ($\chi^2=0.477$; n.s) en el número de sesiones para extinguir el CPL de 12.5mg/kg de cocaína (ver Gráficas 13, 14, 15, 16).



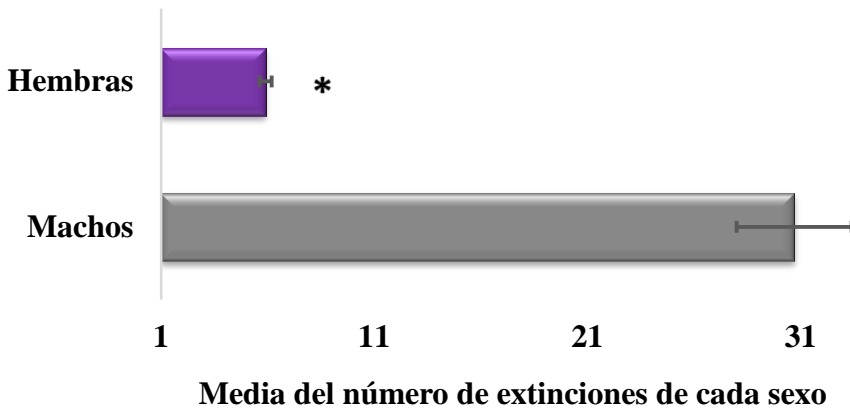
Gráfica 13. Número de sesiones de extinción de cada grupo de IPP y Sexo.



Gráfica 14. Test de Kaplan-Meier con los datos obtenidos después del Post-C para cada animal de cada grupo. * $p < 0.05$ vs. Machos Menor % IPP



Gráfica 15. Test de Kaplan-Meier con los datos obtenidos después del Post-C para cada animal de cada grupo de machos. * $p < 0.05$ vs. Machos Menor % IPP.



Gráfica 16. Test de Kaplan-Meier con los datos obtenidos después del Post-C para cada animal de cada grupo por sexo. * $p < 0.05$ vs. Machos.

7.4.4. Resultados de los tres CPLs juntos (inducidos con 1, 6 y 12.5 mg/kg cocaína).

Resultados en el CPL

El ANOVA de los tres CPLs muestra que existen diferencias significativas entre la variable Días (Pre-C y Post-C) [$F(1,120)=57.298$; $p < 0.0001$] y aunque la interacción Sexo x Dosis x IPP x Días no es significativa [$F(1,120)=0.063$; n.s.], es importante resaltar las diferencias que encontramos entre las puntuaciones del Pre-c respecto al Post-C en todos los animales de mayor IPP con las tres dosis de cocaína [CPL de 1mg/kg cocaína: Machos ($p < 0.002$) y Hembras ($p < 0.002$); CPL de 6mg/kg cocaína: Machos ($p < 0.0001$) y Hembras ($p < 0.010$); 12.5mg/kg cocaína: Machos ($p < 0.0001$) y Hembras ($p < 0.002$)]. En cambio, los animales de menor IPP solamente alcanzan estas diferencias con la dosis de 12.5 mg/kg de cocaína [Machos ($p < 0.0001$) y Hembras ($p < 0.011$)] (ver Grafica 17).

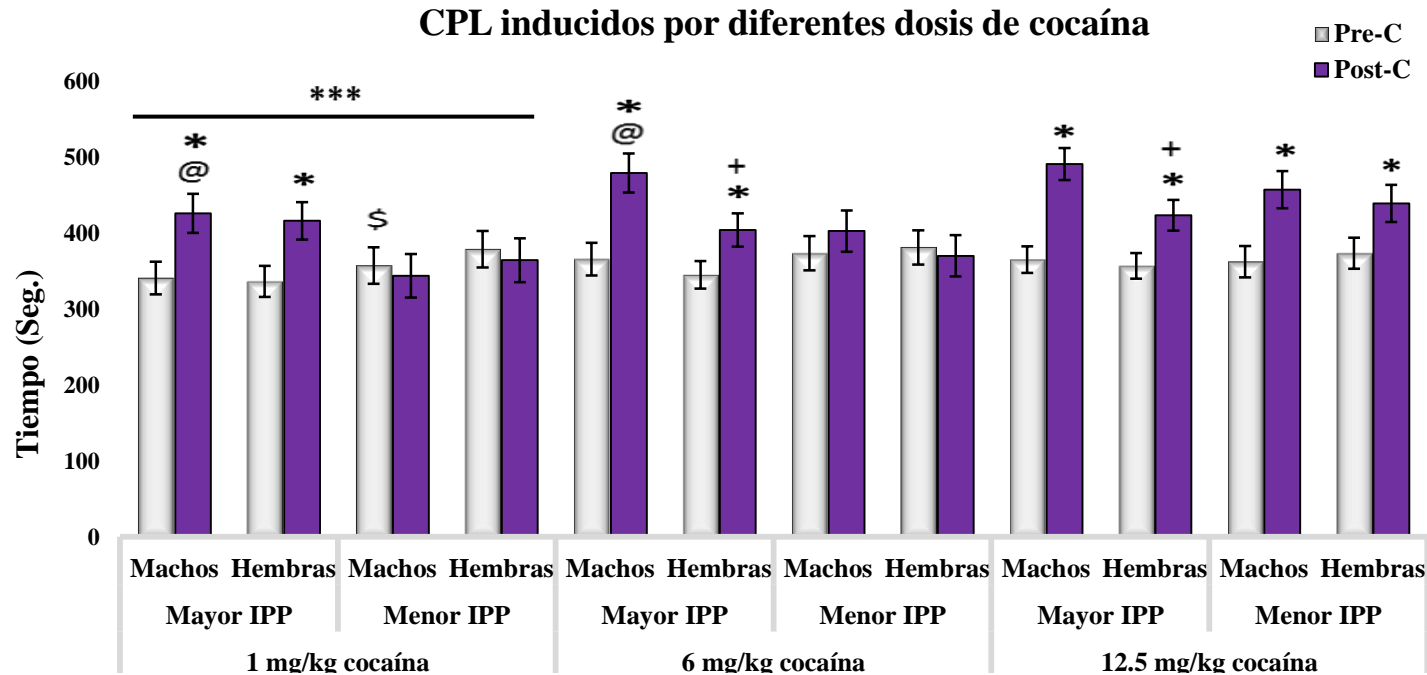
Estudio 1: IPP y CPL

La interacción Días x Dosis [$F(1,120)=5.071$; $p<0.008$] es significativa, concretamente en el día del test Post-C con una puntuación general mayor en el CPL inducido con 12.5 mg/kg de cocaína que en el de 1 mg/kg ($p<0.0001$). De hecho los machos de menor IPP se diferencian en el test del Post-C inducido con 1mg/kg y con 12.5mg/kg de cocaína [$F(1,120)= 4.524$; $p<0.013$]. Lo cual demuestra que la cantidad administrada es un factor relevante para la búsqueda de la droga en los animales con una menor IPP (dosis-dependiente), ya que pasaron más tiempo en el compartimento asociado a la droga cuanto mayor fue la cantidad de la misma (ver Gráfica 17).

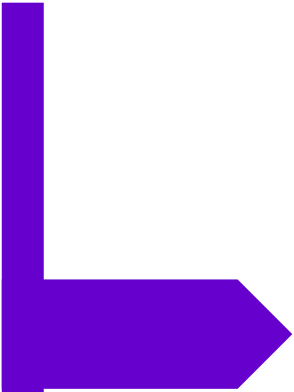
Esto puede corroborarse también en el efecto significativo que observamos entre los machos de mayor y menor porcentaje de IPP el día del Post-C en el CPL de 1 [$F(1,120)= 4.524$; $p<0.035$] y en el de 6 mg/kg [$F(1,120)= 4.184$; $p<0.043$] de cocaína. Lo cual demuestra que con dosis bajas no muestran el mismo efecto ante la búsqueda de la droga los machos según su mayor o menor IPP que con una dosis alta (12.5mg/kg), donde no se observan diferencias entre los grupos porque se condicionan ambos. Este efecto tan específico no lo vemos en las hembras porque a pesar de que se condicionen con la dosis más alta no muestran una puntuación tan extrema como los machos (ver Gráfica 17).

Así mismo encontramos diferencias en la interacción Días x Sexo [$F(1,120)=4.411$; $p<0.038$], dichas diferencias se encuentran el día del test Post-C entre machos y hembras ($p<0.038$), revelando una puntuación mayor los machos que las hembras. Concretamente encontramos diferencias de sexo en el grupo de mayor IPP el día del Post-C en el CPL de 6 mg/kg de cocaína [$F(1,120)= 4.970$; $p<0.028$] y en el CPL inducido con 12.5mg/kg de cocaína [$F(1,120)= 5.291$; $p<0.023$] (ver Gráfica 17).

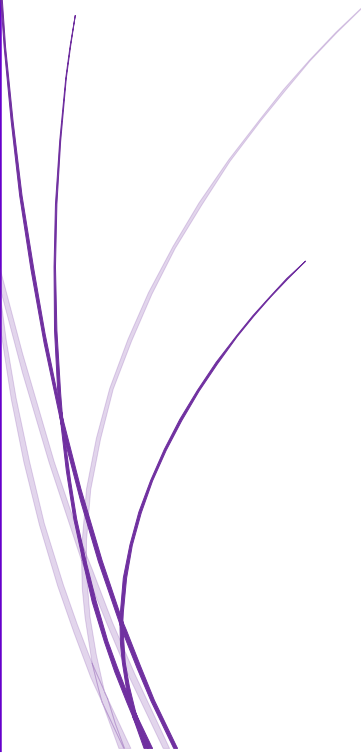
La prueba post hoc, claramente muestra un efecto significativo entre el CPL inducido con 1 y con 12.5mg/kg de cocaína ($p<0.021$).



Gráfica 17. Diferencias entre el Pre-C y el Post-C de los animales según su IPP y dosis * $p < 0.05$. El ANOVA revela un efecto significativo entre las Dosis y los Días; Post-C general de 1mg/kg de es significativamente menor que el Post-C general del CPL de 12.5 mg/kg de cocaína: *** $p < 0.0001$ vs. Post-C 12.5 mg/kg. Y en el día del Post-C los machos de menor IPP entre las dosis de 1 y 12.5 mg/kg de cocaína: \$ $p < 0.05$ vs. Post-C Machos Menor IPP 12.5mg/kg. Así como entre los machos de Mayor y Menor IPP en las dosis de 1 y 6 mg/kg de cocaína: @ $p < 0.05$ vs. Post-C Menor IPP. En la interacción Dosis x Sexo: encontramos diferencias significativas en las puntuaciones del Post-C entre machos y hembras de Mayor IPP tanto en la dosis de 6 como en la de 12.5 mg/kg de cocaína. + $p < 0.05$ vs. Machos.



**ESTUDIO 2: PERFIL
COGNITIVO-
COMPORTAMENTAL
DE LOS RATONES
SEGÚN SU MAYOR O
MENOR IPP**



8. Estudio 2: Perfil cognitivo-comportamental de los ratones según su mayor o menor IPP.

En muchos consumidores habituales de cocaína se observa daño neuropsicológico que se manifiesta con fallos de atención, memoria, velocidad de procesamiento y de las funciones ejecutivas, alteraciones que no parecen ser reversibles, al menos en su totalidad, aunque se realice una abstinencia sostenida (Madoz-Gúrpide y cols., 2009). Es frecuente también, que el consumidor regular de cocaína presente trastornos del estado de ánimo, trastornos de ansiedad, trastornos por déficit de atención, trastornos del control de impulsos, trastornos de la personalidad y alteraciones cognitivas, además de la adicción a la cocaína (Bechara, 2005; Verdejo-García y cols., 2006, 2007; Curtis y Wang, 2007; Herrero y cols., 2008; Perrine y cols., 2008; Niigaki y cols., 2010; Cunha y cols., 2011; Gorodetzky y cols., 2011; Deroche-Gamonet y Piazza, 2013; Ersche y cols., 2013; Wang y cols., 2014) siendo esta concurrencia de patologías conocida como trastorno o patología dual. No queda claro en la literatura si esta confluencia de trastornos se debe a una intoxicación o a una neuroadaptación producida por el abuso de la cocaína, o sin embargo es la consecuencia de compartir los mismos factores predisponentes (Torrens, 2008).

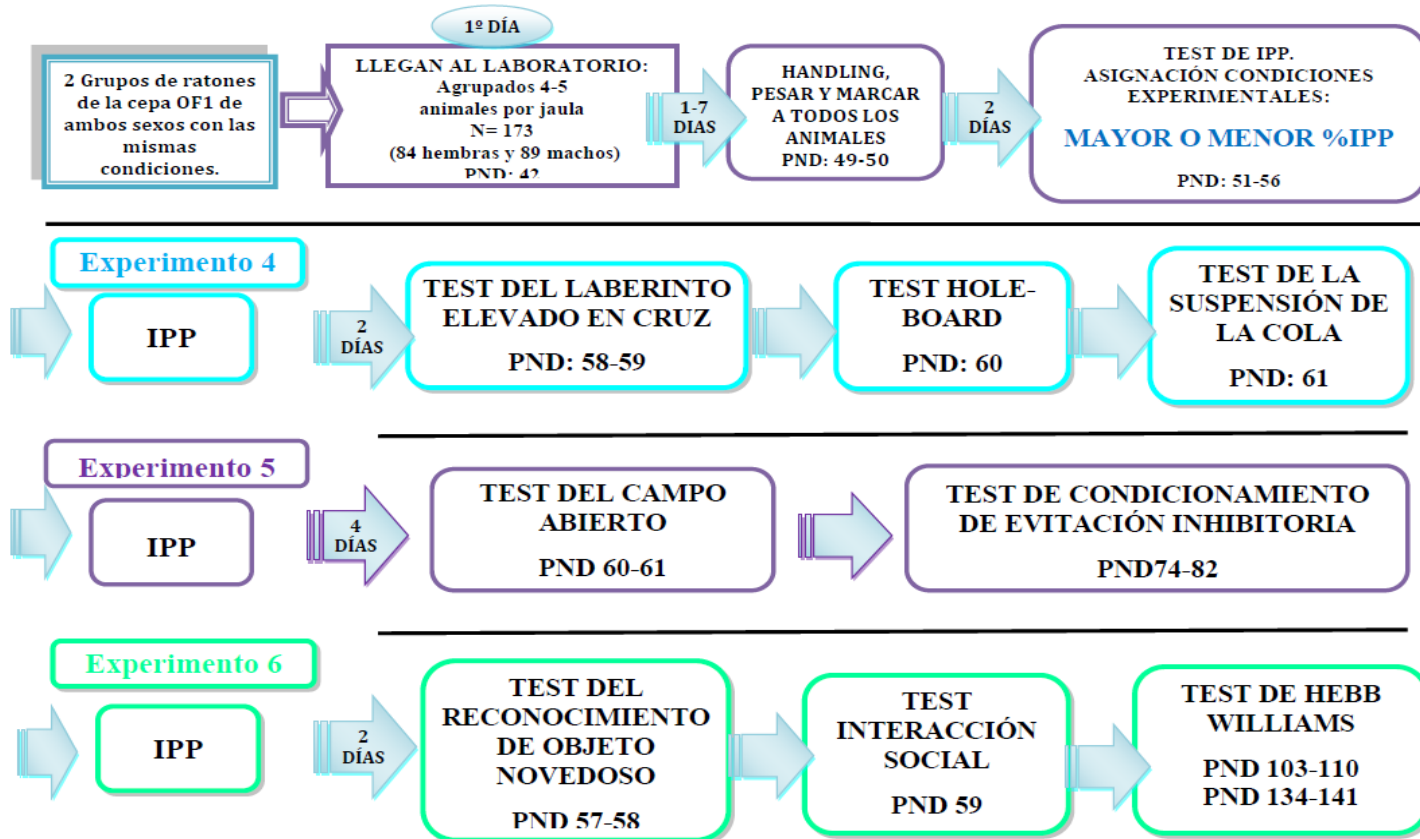
La distribución de los rasgos de personalidad es heterogénea dentro de la misma población adicta a una droga concreta (Ersche y cols., 2013); por ejemplo, algunos adictos a la cocaína muestran altos niveles de ansiedad mientras otros muestran rasgos como una alta impulsividad o un alto rasgo de búsqueda de la novedad (Gunnarsdóttir y cols., 2000). Consideramos por tanto que la cuestión de la vulnerabilidad individual probablemente puede ser la clave para entender la fisiopatología de la adicción, y para ello el rol de los modelos animales es primordial para entender su etiología. El estudio con modelos animales, al contrario de lo que ocurre en estudios con humanos, permite la disociación de fenotipos pre-existentes a partir de

las adaptaciones inducidas por las drogas en cada estado de exposición a la misma (Deroche-Gamonet y Piazza, 2013).

Por tanto, el objetivo de este segundo estudio es conocer el perfil de aquellos animales que hemos clasificado según su IPP con el fin de dilucidar los posibles déficits cognitivos o conductuales que ayuden a explicar mejor las características de los sujetos con una mayor vulnerabilidad a desarrollar un trastorno por abuso de cocaína. En concreto, pretendemos conocer si los ratones que hemos clasificado por su mayor o menor IPP muestran diferencias en su capacidad para asociar los efectos reforzantes de la cocaína a las claves ambientales en la prueba del CPL, o por el contrario presentan un déficit para realizar un condicionamiento de estas características. De esta manera, podremos finalmente confirmar o no que la prueba de la IPP es una buena herramienta para detectar aquellos animales que muestran una preferencia mayor y/o más persistente al lugar asociado a la cocaína, lo cual llevaría a una búsqueda compulsiva de la droga.

La evaluación de las variables conductuales se realizará con el test del campo abierto (actividad locomotora), el test del *hole-board* (búsqueda de la novedad) y la interacción social (conductas típicas de especie). La evaluación de la memoria y el aprendizaje nos permitirá conocer el perfil cognitivo del animal, y se realizará mediante el reconocimiento del objeto novedoso (aprendizaje relacional y perceptivo), el laberinto de Hebb William (aprendizaje y memoria espacial) y el condicionamiento de evitación pasiva (memoria emocional). Finalmente, para evaluar la sintomatología asociada a patología psiquiátrica utilizaremos el laberinto elevado en cruz (ansiedad en un entorno novedoso) y el test de suspensión de la cola (desánimo conductual/anhedonia). Las diferentes pruebas descritas en este Estudio 2 se llevarán a cabo con los **Experimentos 4, 5 y 6** (ver Esquema del procedimiento experimental 2 en la página 121).

ESQUEMA DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL 2



8.1. Material y métodos.

8.1.1. Animales.

Se utilizaron un total de 173 ratones adultos, 89 machos y 84 hembras, de las mismas características y bajo las mismas condiciones que en el experimento 1.

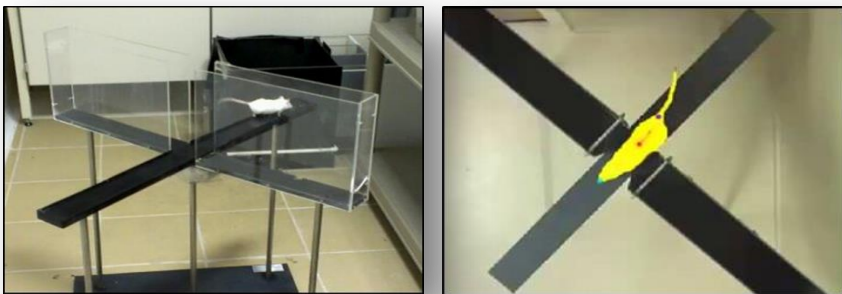
8.1.2. Aparatos.

Inhibición pre-pulso (IPP).

Misma descripción de la IPP que en el Experimento 1.

Laberinto elevado en cruz (*plus-maze*; modelo de ansiedad y actividad motora).

El laberinto elevado en cruz (Cibertec, S.A., Madrid, España) estaba compuesto por dos brazos abiertos y dos brazos cerrados ($30 \times 5 \text{cm}^2$ y $30 \times 15 \times 5 \text{cm}^3$, respectivamente) prolongados desde una plataforma central común ($5 \times 5 \text{cm}^2$) y elevado 50cm por encima del nivel del suelo por cinco soportes. El suelo del laberinto estaba hecho

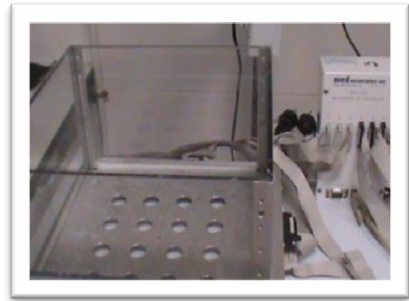


de Plexiglas negro mientras que las paredes de los brazos cerrados eran de Plexiglas claro. La iluminación en la habitación experimental fue todo el tiempo con luz tenue. Para grabar la tarea utilizamos una cámara ethovision (EthoVision XT video tracking software), colocada

a 90 cm por encima del área, que realizaba un seguimiento por video de cada ratón para registrar la actividad y el movimiento del animal.

Test del *hole-board* (*novelty seeking*; modelo preferencia por la novedad).

El aparato consistía en una caja (28 x 28 x 20.5 cm) con 16 agujeros de 3 cm de diámetro equidistantes en el suelo y sus paredes eran de plexiglás transparente. Bajo la superficie de los agujeros tenía unas fotocélulas que detectaban de forma automatizada el número de veces que el animal introducía la cabeza en los orificios (*dips*) con un programa estándar de Cibertec, S.A., Madrid. España.



Test de suspensión de la cola (*tail suspension*; modelo de anhedonia conductual, sintomatología depresión).

El modelo ofrece una medida de desánimo/indefensión conductual del animal, conducta que se relacionan con síntomas asociados a la depresión. Se asume que cambios en el tiempo de inmovilidad se relacionan con cambios en el estado de ánimo (Cryan y cols., 2005), indicativas de trastorno psiquiátrico (Ortega-Alvaro y cols., 2011).

Utilizando un adhesivo de 1 cm, se suspendía a cada ratón por la punta de la cola a 50cm encima de una mesa de laboratorio durante 6 minutos. El registro de la actividad del animal cuando estaba suspendido por la cola se realiza mediante la grabación de la prueba con videocámara, utilizando el programa “raton-



time” para su posterior valoración (Raton Time 1.0, Fixma, S.L., Valencia, España).

Test del campo abierto (*open field test*; modelo de actividad motora).

La prueba de campo abierto se utiliza para evaluar la ansiedad y la unidad de exploración. Se basa en la tendencia natural de un animal para explorar un ambiente desconocido y la reacción de evitación para protegerse, lo que hace que los animales normales pasen más tiempo en las esquinas y en la periferia pegado a las paredes de la caja que en el centro (la zona más ansiógena).

El campo abierto consistía en un área cuadrada (60 x 60 cm²) hecha de un tablero de plástico de policloruro blanco con paredes de 40 cm de altura. La caja estaba enfocada por una cámara de la ethovision (EthoVision XT video tracking software), colocada a 90 cm por encima del área, que realizaba un seguimiento por video de cada ratón para registrar la actividad y el movimiento del animal. Además el experimentador observaba directamente el campo abierto,



observaba directamente el campo abierto, fijándose en el comportamiento del animal. La prueba duraba 10 minutos y por lo general, se obtenían dos medidas: el total de la distancia recorrida, considerada como la actividad locomotriz espontánea del animal, y el tiempo de permanencia en el área central de la caja. Si tenemos en cuenta que el área central de la caja resulta más amenazante que la periferia (zona pegada a las paredes de la caja), esta medida es por tanto considerada una medida de ansiedad. Sin embargo, se pueden recoger otras medidas con esta prueba, tales como la frecuencia de veces que el animal visita el área central o

centro del campo abierto, y la latencia de tiempo en visitar por primera vez el centro (Rejón-Orantes y cols., 2011).

Condicionamiento de evitación inhibitoria o pasiva (test de aprendizaje y memoria emocional).

Se utilizaron dos cajas de condicionamiento de evitación inhibitoria, también llamada de evitación pasiva, para ratones (UGO BASILE, Comerio-Varese, Italia). El sistema constaba de la caja de evitación inhibitoria y de un controlador o interface. En el panel frontal del controlador se seleccionaba de forma manual los parámetros del procedimiento: periodo de adaptación (en segundos), intensidad del shock eléctrico (en mA), así como su duración y la duración total del ensayo (en segundos). La caja de evitación pasiva consistía en una caja de metacrilato dividida en dos compartimentos de iguales dimensiones (15x9.5x16.5 cm³), uno blanco e iluminado por una bombilla de 24v-10W situada en el techo, y otro negro y oscuro. Ambos compartimentos estaban comunicados por una apertura central automatizada. El suelo de la caja estaba compuesta por 48 barras finas y pequeñas de acero inoxidable de 0.7 mm de diámetro, separadas entre sí por 0.8 mm. El controlador medía la latencia de cruce de un compartimento a otro, así como la apertura y el cierre automático de la puerta que comunica los dos compartimentos de la caja (Navarro-Francés y Arenas, 2014).



Reconocimiento del objeto novedoso (test de aprendizaje y memoria relacional y perceptiva).

Con esta tarea se pretendió evaluar la memoria y el aprendizaje mediante el reconocimiento del objeto novedoso, en concreto, el

Estudio 2. Perfil Conductual

aprendizaje relacional y perceptivo (Antunes y Biala, 2012) de los animales.

El material consistía en 4 cubetas cuadradas (24x24 cm) y dos tipos de objetos de igual tamaño, textura, color y forma, en concreto utilizamos dos piedras redondas. Además se utilizó también un gogo de diferente tamaño, textura, color y forma a las piedras y cuatro cubos de plástico más (24x24 cm). El registro se realizó con videocámara y programa de análisis *Raton Time*.



Interacción social con un oponente anosmiado (conductas típicas de la especie).

Para esta prueba utilizamos 4 cajas de metacrilato transparente (60x30x36cm) con el suelo lleno de viruta y un separador opaco. Y para el registro utilizamos 2 videocámaras para analizar posteriormente a cada ratón con el programa *Raton Time*.



Laberinto de Hebb-Williams (test de memoria espacial).

El laberinto Hebb-Williams fue desarrollado en 1946, como una prueba para medir “inteligencia animal” que podría compararse, de

forma abstracta, a los test de inteligencia en humanos. En la versión original de este laberinto, los animales son entrenados en un conjunto de 6 problemas hasta que llegan a un criterio de adquisición y posteriormente son enfrentados a una serie de 12 problemas. Para resolver el laberinto se requiere el uso de la memoria a largo plazo y de la memoria de trabajo. La posición del laberinto dentro de la habitación y la localización de los compartimentos de salida y meta permanecen constantes a lo largo de los 12 problemas (memoria a largo plazo), mientras que la localización de las barreras internas permanece constante en cada problema pero cambia con las diferentes configuraciones diarias (memoria de trabajo). Además de estudiar estos dos componentes de la memoria, la utilización del laberinto Hebb-Williams tiene otras ventajas ya que consta de problemas de diferente dificultad (baja, intermedia y alta). De esta manera, los animales pueden no mostrar déficits en los problemas de aprendizaje, pero sí pueden empeorar la ejecución cuando aumenta la dificultad de los problemas (Stanford y Brown, 2003). Además, el análisis de los errores como una medida del aprendizaje, independientemente del tiempo en el que el animal resuelve el laberinto, elimina el factor de la habilidad locomotora en el análisis de las capacidades de aprendizaje (Peña, 2007).

Por ello, a través del laberinto Hebb-Williams puede obtenerse una gran cantidad de información acerca del curso del aprendizaje de un roedor, habiendo mostrado su utilidad, entre otras cosas, a la hora de (a) investigar los efectos del enriquecimiento ambiental y diferenciar a los animales enriquecidos de los aislados (Peña, 2007), (b) para evaluar la recuperación del aprendizaje después de lesiones límbicas en ratones (Meunier y cols., 1986) (c) para diferenciar el tipo de aprendizaje según el sexo y/o la especie animal (Stanford y Brown, 2003) o (d) evaluar el efecto de fármacos sobre el aprendizaje y conducta en ratones (Vidal-Infer y cols., 2012b). Este laberinto también se ha utilizado previamente para conocer los efectos de lesiones en el hipocampo, implicado en la memoria espacial (Kimble,

1963), para diferenciar el tipo de aprendizaje según la especie animal (Livesey, 1966) o evaluar el efecto de fármacos sobre el aprendizaje y conducta en ratones (Vidal-Infer y cols., 2012b).

Las pruebas se estructuran en un total de 8 días, de los cuales los 3 primeros son considerados de prueba, y los 5 siguientes los componen los 5 laberintos de test (1, 3, 4, 5 y 8). Cada día se administra un laberinto diferente siguiendo un orden establecido (ver Figura 5).


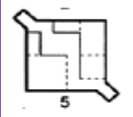

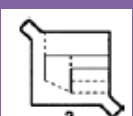

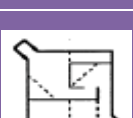
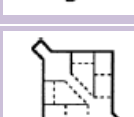

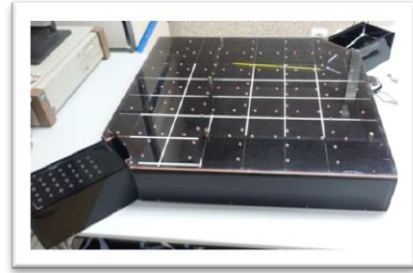
Día 1	<i>Campo sin barreras</i>		Día 5	<i>Laberinto 5 (difícil)</i>	
Día 2	<i>Prueba 1. Problema A</i>		Día 6	<i>Laberinto 3 (fácil)</i>	
Día 3	<i>Prueba 2. Problema D</i>		Día 7	<i>Laberinto 4 (fácil)</i>	
Día 4	<i>Laberinto 1 (fácil)</i>		Día 8	<i>Laberinto 8 (difícil)</i>	

Figura 5. Configuración laberintos utilizados en este estudio según clasificación de Stanford y Brown (2003).

El laberinto que utilizamos en nuestro trabajo estaba hecho de plexiglas negro con unas medidas de 60x60x10cm y con una tapa transparente que permitía ver el interior del laberinto. El suelo tenía líneas blancas que marcan la división del laberinto en 36 cuadrantes de 10 x 10 cm. Además contenía dos cajas rectangulares situadas diagonalmente opuestas en las esquinas del laberinto que servían de

entrada y salida o meta (ambas de 14x9 cm). Varias estructuras rectangulares (10x2.5 cm) de diferente longitud se fijaban con tornillos a la tapa, conformando 12 recorridos de diferente dificultad.



El laberinto contenía agua fría a poca profundidad, ya que los animales podían desplazarse por el laberinto sin tener que nadar (15°C, 3.5 cm de alto) y en la caja de meta se colocaba un trozo de papel a modo de lecho seco. Este aparato permite el estudio de los procesos cognitivos de la memoria espacial y la motivación escapar del agua fría con el registro de latencia de llegada y errores por el observador.

Otros aparatos.

La cámara de vídeo utilizada fue una Hitachi DVD Video Camera/Recorder, Japan, para grabar a los animales en la tarea de la suspensión de la cola. Y posteriormente las conductas fueron analizadas mediante el programa informático *Raton Time 1.0* (Fixma, S.L., Valencia, España).

También utilizamos la cámara Ethovision (EthoVision XT video tracking software), para grabar las conductas de los animales cuando realizaban el test del laberinto elevado en cruz y el test del campo abierto.

8.2. Procedimiento.

Tras el periodo de adaptación al animalario, los animales fueron pesados e identificados con una pintura inocua e indeleble, los machos fueron pintados de azul y las hembras de morado (PND 49-50) en todos los experimentos de este estudio.

El estudio se inició con la prueba de la IPP, seguida del test del laberinto elevado en cruz, luego realizamos el test de la preferencia por la novedad y concluyó con el test de suspensión de la cola (**Experimento 4**).

A continuación repetimos la prueba de la IPP a un nuevo grupo de animales, seguida del test del campo abierto y finalizando con la prueba del condicionamiento de evitación inhibitoria o pasiva (**Experimento 5**).

En último lugar realizamos el **Experimento 6**, empezamos con la prueba de la de la IPP con otro grupo de animales, a continuación realizamos el test del reconocimiento del objeto, seguido del test de la interacción social y finalizando con la prueba del laberinto Hebb Williams (ver esquema del procedimiento experimental 2 en la página 121).

Después de llevar a cabo cada uno de los ensayos y de las pruebas, todos los aparatos se limpiaban con 70% de alcohol disuelto en agua entre un animal y el siguiente.

8.2.1. Procedimiento del Experimento 4: IPP, laberinto elevado en cruz, test de suspensión de la cola y prueba de la preferencia por la novedad.

Inhibición pre-pulso.

La IPP se realizó con el mismo procedimiento mostrado en el Estudio 1 (PND 51-56).

Laberinto elevado en cruz.

Transcurridos dos días desde la prueba de la IPP realizamos el test del laberinto elevado en cruz en dos días consecutivos (PND 58-59). La prueba comenzó adaptando a los animales a la sala

experimental débilmente iluminada durante 1 h, se colocaba cada animal en la plataforma central de cara a un brazo abierto y se les permitía explorar durante 5 min. El laberinto se limpiaba con algodón empapado en una solución de suero fisiológico y alcohol al 7% después de cada ensayo. Las medidas que se obtuvieron fueron: tiempo, porcentaje y número de entradas en brazos abiertos, en brazos cerrados, latencia de entrada en brazos abiertos y la distancia recorrida. Las medidas registradas que se relacionan con la ansiedad eran el porcentaje de tiempo que los ratones pasaban en los brazos abiertos $[(\text{tiempo abierto}/\text{tiempo abierto+cerrado}) \times 100]$ y el porcentaje de entradas en los brazos abiertos $[(\text{n}^\circ \text{entradas abierto}/\text{n}^\circ \text{entradas abierto+cerrado}) \times 100]$, mientras que la distancia recorrida se relacionaba con la actividad motora.

Test del *hole-board*.

A continuación, con PND 60 comenzaba el test del *hole-board* con la colocación de cada animal en el aparato (siempre en el mismo lateral) permitiéndole explorar libremente durante 10 minutos. Se registraba el número de bolos y de *dips* (introducir el hocico en uno de los agujeros del aparato) que realizaba cada animal. Esta medida se considera un índice de conducta exploratoria en un ambiente novedoso. La sala experimental estaba iluminada con una luz tenue (15w). Estudios anteriores en nuestro laboratorio han mostrado que la conducta mostrada por los ratones en el test del *hole-board*, cuantificada con el número de *dips* que realizan, es una buena medida para distinguir entre altos- y bajos-NS en animales (Vidal-Infer y cols., 2012a).

Test de suspensión de la cola.

Al día siguiente de realizar el test del *hole-board* evaluamos a este grupo de animales en la última prueba del experimento 5 con el Test de la suspensión de la cola (PND 61). La prueba consistía en registrar el tiempo que el animal estaba totalmente inactivo durante 6

minutos mientras permanecía suspendido de la cola. Para ello se utilizaba un adhesivo de 1 cm con el que se suspendía a cada ratón por la punta de la cola a 50cm encima de una mesa de laboratorio durante 6 minutos. El registro de la actividad del animal cuando estaba suspendido por la cola se realizaba mediante la grabación de la prueba con videocámara, valorándose posteriormente utilizando el programa *Raton Time* (*Raton Time* 1.0, Fixma, S.L., Valencia, España)

Se obtienen dos medidas: a) tiempo en inmovilidad b) latencia de tiempo en inmovilidad

8.2.2. Procedimiento del Experimento 5: IPP, test del campo abierto y test de la evitación pasiva.

Inhibición pre-pulso.

La IPP se realizó con el mismo procedimiento mostrado en el Estudio 1 (PND 51-56).

Test de campo abierto.

A los cuatro días de realizar la prueba de la IPP comenzó el test del campo abierto (PND 60-61). Todos los animales tuvieron que realizar la misma prueba solo una vez, pero se dividió la muestra en dos, contrabalanceando los grupos para realizar el total de tests en dos días. Para comenzar, se colocaba a cada animal dentro del área de la caja durante 10 minutos pulsando el *play*, quedando grabada la prueba por Ethovision, donde el ordenador registraba las siguientes conductas: distancia total recorrida (cm), tiempo total en el centro (seg), frecuencia en visitar el centro y la latencia de entrar en el centro (seg).

Condicionamiento de evitación inhibitoria o evitación pasiva.

Después de realizar la prueba del campo abierto procedimos a realizar la prueba de evitación pasiva (PND 74). El primer día de

entrenamiento se siguió el siguiente protocolo: la sesión de entrenamiento o *training* se iniciaba con un período de adaptación al compartimento con luz blanca de 60 segundos y durante este período la puerta que separaba ambos compartimentos permanecía cerrada, mientras la luz del laboratorio estaba apagada. Transcurrido este tiempo, la puerta se abría automáticamente. Cuando el animal cruzaba al compartimento con luz oscura, la puerta se cerraba y el animal recibía una descarga de 0.5 mA durante 3 seg. El tiempo de latencia de cruce al compartimento se registraba en la *interface*. El ensayo terminaba e inmediatamente después el animal era devuelto a su jaula (Navarro-Francés y Arenas, 2014).

Transcurridas 24 horas desde la sesión de adquisición o *training*, cada animal fue expuesto a la misma tarea. Esta fase denominada retención o test pretendía evaluar el aprendizaje y el recuerdo del estímulo aversivo. Para ello, cada ratón era nuevamente colocado en el compartimento iluminado permaneciendo allí durante un período de adaptación de 60 segundos, tras los cuales la puerta se abría automáticamente proporcionando acceso el animal a entrar al compartimento negro. El tiempo de latencia de cruce al compartimento se registraba en la *interface*. A diferencia de la fase de *training*, el animal no recibía la descarga cuando cruzaba al compartimento negro. Si transcurridos los 5 minutos del ensayo el animal no cruzaba, se le devolvía a su jaula. Dos días después (transcurridas 72 h), comenzó la fase de evaluación del recuerdo. Se trataba de evaluar si el animal recordaba la conducta condicionada en la fase de adquisición producida por la asociación que se había creado entre el compartimento negro y el estímulo aversivo, en el caso que nos atañe, la descarga eléctrica. El protocolo fue el mismo que el descrito en el test de retención a las 24 h, y se repitió una nueva fase de evaluación del recuerdo del castigo a la semana [PND 74 (*training*); 75 (test 24h); 77 (test 72h); 82 (test semana)].

8.2.3. Procedimiento del Experimento 6: IPP, reconocimiento de objeto, interacción social y Hebb Williams.

Inhibición Pre-pulso.

La IPP se realizó con el mismo procedimiento mostrado en el Estudio 1 (PND 51-56).

Reconocimiento del Objeto Novedoso.

A los dos días de realizar el test de IPP procedimos a evaluar a los animales de este experimento 6 en el test de reconocimiento del objeto novedoso (PND 57-58). El procedimiento seguido en nuestro experimento para realizar este test es el descrito previamente por Pascual y cols., (2011), y consiste en tres fases: habituación, entrenamiento o *training* y test. En la fase de habituación se colocaba a cada animal en una de las cubetas para que explorase durante 5 minutos con el fin de que conociese el lugar al día siguiente y no le resultase novedoso. Al día siguiente se procedió a realizar la fase de entrenamiento, el animal se colocaba en la cubeta la cual contenía dos objetos iguales colocados en medio de la caja dejando al animal explorar durante 3 minutos. Después de sacar al animal de la cubeta durante 1 minuto para que retuviese lo aprendido en la fase de entrenamiento, volvíamos a introducirlo 3 minutos más en la cubeta para realizar el test. En esta fase, uno de los objetos era el mismo que en la fase de entrenamiento pero el otro era un objeto nuevo. La exploración del objeto fue definida como la orientación del hocico del animal a 2cm o menos hacia el objeto. Se contabilizaba la latencia de contacto, tiempo y número de exploraciones realizadas al objeto novedoso y al objeto conocido. Además se utilizaron varias fórmulas como:

- Índice de discriminación del tiempo explorando el objeto novedoso (IDT) y del número de aproximaciones al objeto novedoso (IDA) [IDT = $(t_{\text{novel}} - t_{\text{familiar}}) / (t_{\text{novel}} + t_{\text{familiar}}) \times 100\%$]; [IDA = $(a_{\text{novel}} - a_{\text{familiar}}) / (a_{\text{novel}} + a_{\text{familiar}}) \times 100\%$].

- Tiempo de exploración total (E2T) y del número de aproximaciones totales (E2A) de los dos objetos (E2T = $t_{\text{novel}} + t_{\text{familiar}}$); (E2A = $a_{\text{novel}} + a_{\text{familiar}}$).

Interacción social con un oponente anosmiado.

Al día siguiente de realizar el test del reconocimiento del objeto novedoso procedimos a evaluar a los animales en el test de la interacción social (PND 59). El test consistía en el encuentro durante 10 minutos entre un ratón experimental y un oponente anosmico. Utilizando un separador opaco se permitía un minuto de habituación individual de los animales a la caja de metacrilato con viruta, transcurrido el cual, se retiraba y comenzaba el encuentro agonístico con el coespecífico. Se analizaba el tiempo que los animales dedicaban a cada una de las diferentes categorías conductuales: exploración social y no social, aseo, escarbar, conducta sexual, exploración a distancia, amenaza, ataque, huida, defensa e inmovilidad. Técnica etofarmacológica de evaluación descrita en Martínez y cols., (1991) y en Rodríguez-Arias y cols., (1998). Para realizar esta prueba es necesario que los oponentes produzcan respuestas típicas de especie pero no realicen conductas de amenaza o ataque al ratón experimental, para ello se les eliminaba temporalmente el olfato anosmiando 20 horas antes de la prueba al ratón oponente con un lavado intranasal con solución de sulfato de zinc al 4% utilizando una jeringuilla de punta roma (Smoothy y cols., 1986). El sulfato de zinc les produce una anosmia transitoria y no perciben una feromona presente en la orina de su oponente, que en condiciones normales es una señal que induce un aumento de la conducta agresiva en los ratones (Mugford y Nowell, 1970; Brain, 1981). Además todos los encuentros se grababan para el posterior análisis con dos video cámaras y el programa *Raton time*. Las distintas conductas analizadas eran las siguientes (adaptado de Martínez y cols., 1991):

CUIDADO CORPORAL

1.- Aseo abreviado: El animal pasa las patas delanteras desde la parte posterior de la cabeza hasta la nariz, una sola vez.

2.- Autoaseo: El animal se lame el pelo del cuerpo.

3.- Lavado: El animal se lame las patas delanteras y a continuación las pasa desde las orejas a la nariz.

4.- Rascarse: El animal se rasca con las patas traseras los flancos y la cabeza.



ESCARBAR

5.- Escarbar: El animal tira el serrín hacia atrás con las patas delanteras.

6.- Escarbar hacia atrás: El animal tira el serrín hacia atrás con las patas traseras.

7.- Escarbar hacia delante: El animal tira el serrín hacia delante con las patas delanteras.



EXPLORACION NO SOCIAL

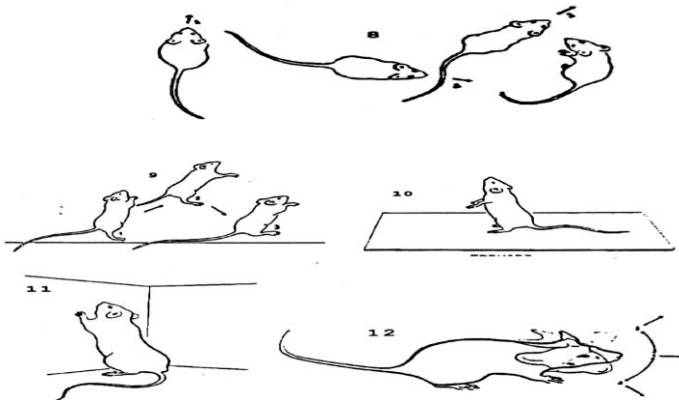
8.- Deambulación: El animal deambula dirigiendo su atención hacia el ambiente y no hacia el oponente.

9.- Salto: El animal salta con las cuatro patas.

10.- Erguido: El animal explora el ambiente en postura bípeda.

11.- Erguido contra la pared: Postura similar a "erguido", excepto que apoya las patas delanteras en la pared de la jaula.

12.- Ojear: El animal apoyado sobre las cuatro patas, mueve la cabeza de un lado a otro, dirigiendo su atención al ambiente y no hacia el oponente.



EXPLORACION DESDE UNA DISTANCIA

13.- Aproximación: El animal deambula hacia el oponente.

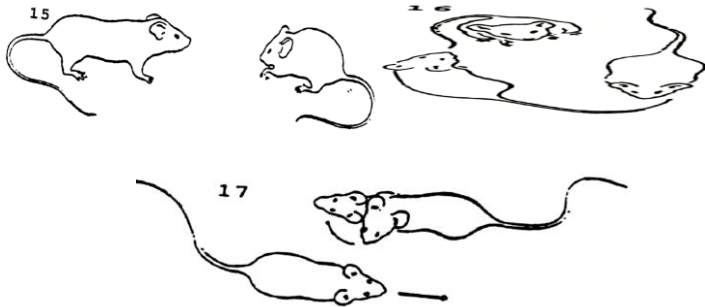
14.- Atención: El animal dirige su atención hacia el oponente.

15.- Atención extremada: Actividad similar a "atención", con la particularidad de que el animal se inclina hacia delante estirando la cabeza y el cuello.

16.- Ida y vuelta: El animal se acerca y se aleja del oponente sin pausa en la deambulación.

17.- Cabeza orientada: El animal gira la cabeza hacia el oponente.





INVESTIGACION SOCIAL

18.- Pasar por encima: El animal pasa por encima del oponente.

19.- Pasar por debajo: El animal mete la cabeza y parte anterior del cuerpo debajo del oponente.

20.- Rodeo: El animal se mueve alrededor del oponente dirigiendo su atención hacia éste.

21.- Seguimiento: El animal deambula tras el oponente que se aleja.

22.- Empujando: El animal se mueve en estrecho contacto lateral con el oponente.

23.- Aseo corporal: El animal lame al oponente en alguna región del cuerpo, excepto en la cabeza.

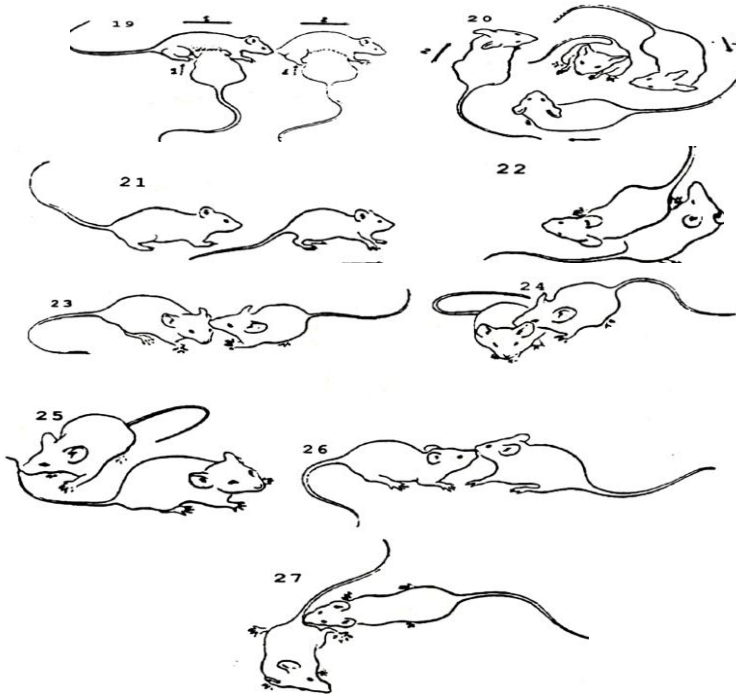
24.- Aseo de la cabeza: El animal lame la cabeza del oponente.

25.- Olfateo corporal: El animal olfatea alguna región del cuerpo del oponente, excepto la cabeza.

26.- Olfateo de la nariz: El animal olfatea la nariz del oponente.

27.- Olfateo ano-genital: El animal olfatea la región ano-genital del oponente.





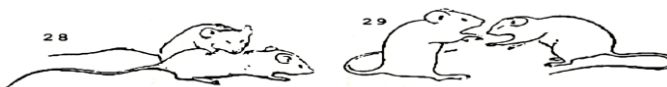
AMENAZA

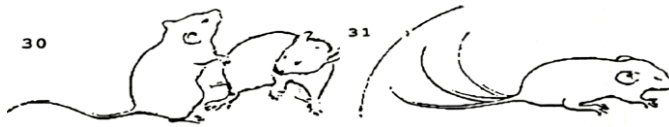
28.- Aseo agresivo: El animal lame al oponente, desde una posición lateral, con los dientes y patas delanteras.

29.- Ofensa vertical: El animal, en bipedestación, con el lomo encorvado e inclinado hacia el oponente, presenta los ojos entreabiertos y las orejas gachas.

30.- Ofensa lateral: El animal, apoyado en tres patas, se sitúa lateralmente al oponente, presenta los ojos entreabiertos y las orejas gachas.

31.- Golpeteo con el rabo: El animal realiza rápidos movimientos del rabo.



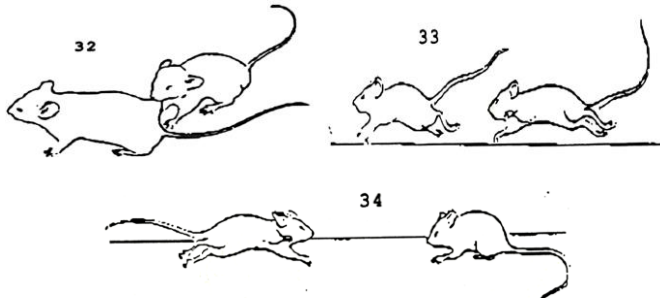


ATAQUE

32.- Ataque mordaz: El animal muerde al oponente.

33.- Persecución: El animal corre detrás del oponente que huye.

34.- Carga: El animal se dirige corriendo hacia el oponente.



EVITACIÓN Y HUIDA

35.- Alejamiento: El animal deambula alejándose del oponente.

36.- Retirada: El animal corre alejándose del oponente.

37.- Salto: El animal salta al acercarse el oponente.

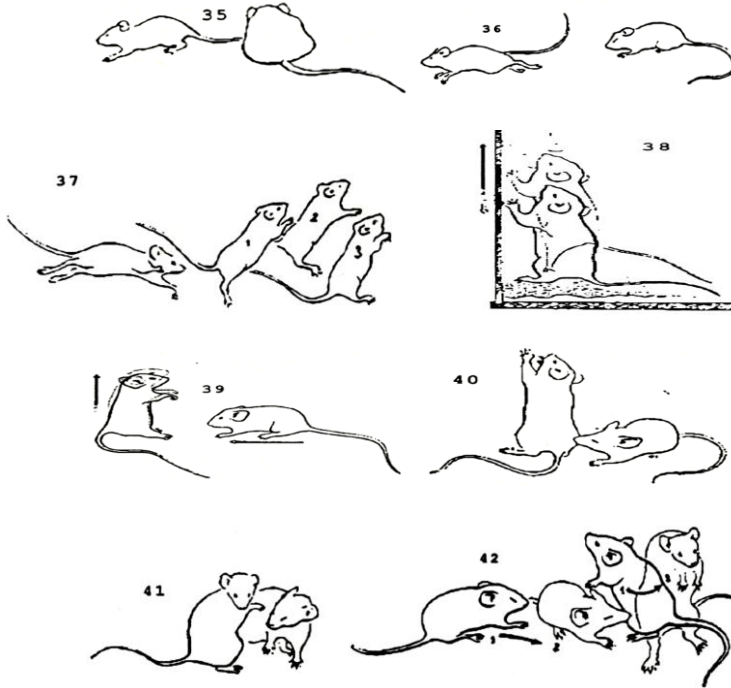
38.- Salto junto a la pared: El animal salta apoyándose en las paredes de la jaula.

39.- Sobresalto: El animal realiza un súbito movimiento al acercarse el oponente.

40.- Acorralado contra la pared: El animal, en posición bípeda, se aprieta contra la pared de la jaula extendiendo los miembros delanteros.

41.- Giro de la cabeza: El animal retira rápidamente la cabeza para evitar al oponente.

42.- Retroceso: El animal se vuelve de espaldas al acercarse el oponente.



DEFENSA/SUMISION

43.- Defensa lateral: El animal se apoya sobre tres patas y se sitúa lateralmente con respecto al oponente. Los ojos abiertos y las orejas extendidas.

44.- Defensa vertical: El animal adopta una posición bípeda con respecto al oponente, con los ojos abiertos y las orejas extendidas.

45.- Sumisión vertical: Una forma extrema de "defensa vertical" en la que el animal estira la cabeza hacia atrás, con las patas delanteras rígidas y ampliamente extendidas

Estudio 2. Perfil Conductual



CONDUCTA SEXUAL

46.- Intento de monta: El animal intenta montar dorsalmente al oponente.

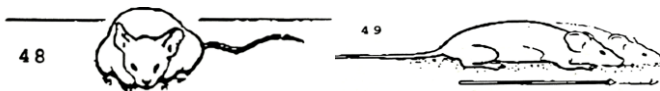
47.- Montar: El animal encima del oponente, agarrado a los flancos de éste, realiza movimientos pélvicos.



INMOVILIDAD

48.- Agachado: El animal permanece en completa inmovilidad, con las cuatro patas apoyadas en el suelo.

49.- Arrastrarse: Postura similar a la anterior. En este caso el animal se arrastra lejos del oponente



Laberinto Hebb-Williams.

Tras haber finalizado la prueba de la interacción social se procedió a realizar el laberinto Hebb-Williams en dos tandas diferentes de animales puesto que la prueba era excesivamente larga para poder evaluar a todos los animales en un día (PND 103-110; PND 134-141). Además, decidimos seleccionar solo a 12 animales de cada grupo de IPP y sexo para tener un número igual de animales en cada tanda (elegidos del total de animales que realizaron la IPP del Experimento 6). Después de seleccionar a los animales comprobamos con un nuevo análisis de k medias (*cluster*) que las diferencias en la IPP entre los grupos se mantenían.



El primer día se realizaba un periodo de habituación al laberinto o prueba de campo sin barreras, permitiendo al animal explorar sin agua y sin barreras. En la prueba de campo sin barreras solo se realizaba un ensayo, que finalizaba con la salida del animal por el compartimento de meta o transcurridos 5 minutos.

Los dos siguientes días se realizaban dos laberintos de prueba con agua y sin zonas de error. En estos laberintos se realizaban 4 ensayos por día con un máximo de 5 minutos por ensayo. El objetivo de estos 3 días de prueba era que el animal se adaptase y habituase a esta rutina diaria, y estableciera el hábito de ir hacia la meta sin entretenerse explorando.

Tras realizar la habituación en campo abierto y los dos días de prueba se procedió a realizar 5 días con laberintos de test, compuestos por 8 ensayos cada día con un máximo de 5 minutos por ensayo. Si un ratón realizaba 3 ensayos seguidos sin salir del laberinto finalizaba la prueba y no participaba más en el laberinto de ese día. A lo largo de

los 5 días se alternaban laberintos fáciles y difíciles según la clasificación de Stamford y Brown (2003). Los laberintos 1, 3 y 4 son considerados como fáciles y los 5 y 8 como difíciles. El tiempo se controlaba con un cronometro, que comenzaba la cuenta cuando el animal ponía las 4 patas fuera del compartimento de salida y cerrándose tras él la puerta de la salida para impedir que volviese a entrar. La puerta del compartimento de meta se mantenía abierta durante todo el ensayo. Se consideraba que el animal entraba en una zona de error cuando ponía las 4 patas sobre ella y solo se contabilizaba el número de entradas en las zonas de error. La zona 1 se encontraba próxima al camino principal; sin embargo, la zona 2 era la más alejada y el ratón debía pasar previamente por la zona 1 para acceder a la zona 2. Existían dos zonas de error en todos los laberintos salvo en el 5, en el que había 3 zonas de error.

En el transcurso de todos los ensayos se registraron tanto la latencia de llegada a la meta como el número de entradas en cada zona de error. Las medidas utilizadas fueron: latencia de llegada a la meta en cada laberinto (suma de los 8 ensayos: tiempo total), latencia de llegada a meta en cada ensayo de cada laberinto, número total de errores en cada laberinto, numero de errores por ensayo y el criterio de adquisición. El criterio de adquisición supone que un animal ha aprendido el recorrido del laberinto correspondiente cuando realiza dos ensayos seguidos en menos de 60 segundos.

8.3. Análisis Estadísticos.

El análisis de los resultados de la IPP se realizó con los datos obtenidos del Bloque II en la tercera fase. Los datos fueron ordenados según el tipo de ensayo (p.ej. exportando los datos relevantes en columnas de Excel y clasificando cada columna por la intensidad y duración ITI de cada pre-pulso). Luego se realizó el promedio de los diez resultados por tipo de ensayo y el resultado de los ensayos ordenados por pre-pulso se dividió por el resultado obtenido sin el

pre-pulso (pulso solo) y multiplicado por 100. Este resultado nos indicaba la cantidad de sobresalto restante (porcentaje de sobresalto base) bajo diferentes tipos de pre-pulso para cada animal, donde el sobresalto basal (pulso solo) era el 100%. Este cálculo nos permitió conocer el porcentaje de IPP (%IPP) de la respuesta de sobresalto de cada animal.

$$\%IPP = 100 - (100 * \text{PRE-PULSO} + \text{PULSO SOLO} / \text{PULSO SOLO})$$

Para la distribución de los animales dentro de cada sexo según fuese su mayor o menor IPP, realizamos un análisis de conglomerados de K medias (cluster) utilizando el promedio del porcentaje de los 4 resultados obtenidos en la IPP (%IPP) de cada animal, con el fin de dividir a los animales en altos o bajos inhibidores (Navarro-Francés and Arenas, 2014), es decir, aquellos que tenían un mayor o un menor %IPP según el resultado obtenido en el promedio del porcentaje de las 4 medidas de IPP. El centro de los grupos o clusters se calculó por separado según el sexo, con el propósito de conseguir una distribución igual en machos y hembras de cada grupo de IPP.

Realizamos un ANOVA de un factor (Sexo) con la variable dependiente (%IPP) para comprobar si había diferencias entre los sexos en la IPP en cada Experimento.

Para conocer si existían diferencias en el nivel de ansiedad y la actividad motora de los animales realizamos una ANOVA de cada medida registrada en Laberinto elevado en cruz. Con dos variables enter: Sexo (machos y hembras) e IPP (mayor y menor); y las variables dependientes (porcentaje de tiempo en brazos abiertos (%TBA), porcentaje de entradas en brazos abiertos (%EntraBA) y distancia recorrida).

Así mismo, analizamos los datos obtenidos en la prueba de la preferencia por la novedad (*hole-board*) para comprobar si existían diferencias entre los grupos de animales. Con este propósito

realizamos una ANOVA con las variables enter: Sexo (machos y hembras) e IPP (mayor y menor); y la variables dependientes (latencia del primer *dip*, número de *dips* y número de bolos).

Analizamos los datos obtenidos en el test de la suspensión de la cola (*tail suspension*) para conocer si existían diferencias en el grado de indefensión (variable relacionada con la depresión) de los animales. Realizamos una ANOVA con las variables enter: Sexo (machos y hembras) e IPP (mayor y menor IPP); y la variables dependientes (latencia del primer momento de inmovilidad y tiempo de inmovilidad total).

Con el fin de conocer la memoria de los animales a un evento aversivo analizamos los resultados de la prueba de condicionamiento de evitación inhibitoria. Para ello, realizamos una ANOVA de medidas repetidas con las variables enter: Sexo (machos y hembras) e IPP (mayor y menor); y la variable intra: Sesiones-evitación (con 4 niveles: *training*, test 24h, test 72h y test semana) y (con 3 niveles: *training*, test 24h, y test semana) al no observar diferencias entre las sesiones test 24h y test 72h, se decidió eliminar esta segunda sesión.

De igual forma, para conocer si existían diferencias en el nivel de actividad motora y del nivel de ansiedad de los animales se realizó una ANOVA para cada medida registrada en la prueba del campo abierto (distancia recorrida, tiempo total en el centro, frecuencia en visitar el centro y latencia en visitar por primera vez el centro) con las variables enter: Sexo (machos y hembras) e IPP (mayor y menor IPP).

Con el objetivo de conocer las posibles diferencias en el reconocimiento del objeto novedoso, realizamos un ANOVA para cada una de las medidas registradas: Índice de discriminación del tiempo (IDT) y del número de aproximaciones (IDA) al objeto novedoso; E2 del tiempo (E2T) y del número de aproximaciones (E2A), explorando en conjunto los dos objetos (el total de exploración). Con dos factores entre: “IPP” con dos niveles (mayor,

menor) y “Sexo” con dos niveles (macho y hembra) en cada uno de ellos.

Para conocer si existían diferencias en las conductas espontáneas realizadas en la prueba de la interacción social realizamos un análisis de todas las conductas valoradas en dicha prueba. Para ello realizamos tres ANOVAs diferentes, uno del tiempo de cada conducta registrada, otro de las concurrencias y otro de la primera latencia con dos factores entre: “IPP” con dos niveles (mayor, menor) y “Sexo” con dos niveles (macho y hembra) en cada uno de ellos.

Antes de efectuar los análisis del laberinto Hebb-Williams, realizamos un análisis de conglomerados de K medias (*cluster*) empleando la media del porcentaje de los 4 resultados obtenidos en la IPP (%IPP) de los 12 animales por grupo seleccionados para esta prueba del total de animales que realizaron la IPP del Experimento 6.

Los datos registrados en la prueba del laberinto Hebb-Williams también fueron analizados a través de análisis de varianza ANOVA de medidas repetidas con dos variables enter: Sexo (con dos niveles: machos, hembras) e IPP (con dos niveles: mayor, menor) y una variable intra: Laberintos (con cinco niveles, coincidentes con los cinco laberintos: laberinto 1, laberinto 5, laberinto 3, laberinto 4, laberinto 8) en una ANOVA y Dificultad del laberinto (con dos niveles: fácil, difícil) en la segunda ANOVA.

Se realizó un ANOVA para cada medida registrada en el laberinto Hebb-Williams (tiempo total de ejecución en cada laberinto, número de errores cometidos en cada laberinto y criterio de adquisición), tanto en función de cada laberinto (variable intra Laberintos) como en función de la dificultad de los mismos (variable intra Dificultad laberintos).

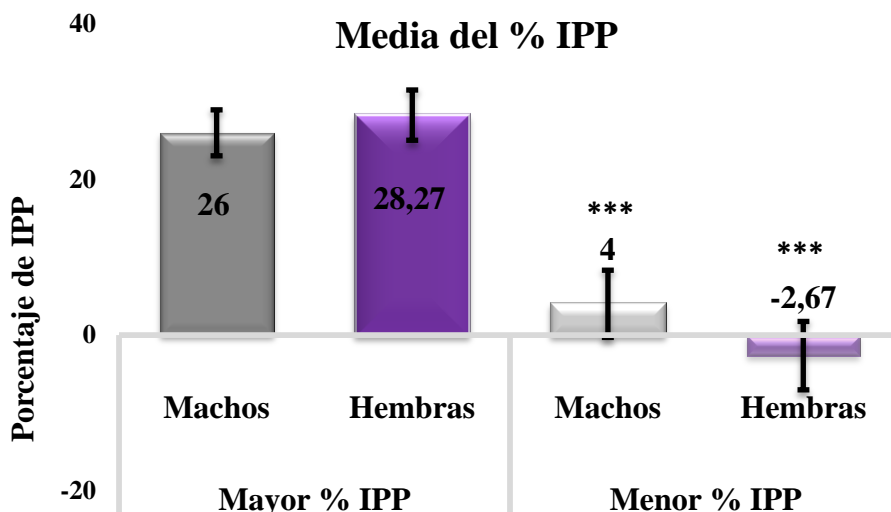
Para realizar las comparaciones post-hoc se utilizó la prueba de Bonferroni. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS (IBM SPSS Statistics versión 19).

8.4. Resultados.

8.4.1. Resultados Experimento 4: IPP, laberinto elevado en cruz, test de suspensión de la cola y prueba de la preferencia por la novedad.

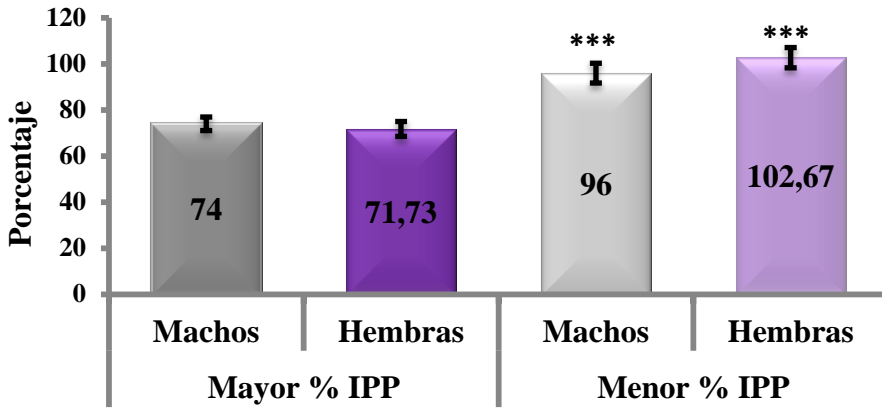
Resultados en la IPP.

La distribución significativa de los cuatro grupos de animales con el análisis de conglomerado de K medias según la media del porcentaje de los 4 resultados obtenidos en la IPP se pueden observar en la Tabla 6. **Machos:** [F(1,17)=22.023; $p < 0.0001$]; **Hembras:** [F(1,22)=36.202; $p < 0.0001$] (ver Gráficas 18 y 19).



Gráfica 18. Distribución de la muestra según %IPP (cluster).
*** $p < 0.0001$ Mayor % IPP vs. Menor % IPP.

Media de Respuestas de sobresalto (4)



Gráfica 19. Distribución de la muestra según %IPP (cluster) de las 4 respuestas de sobresalto utilizadas en la prueba. *** $p < 0.0001$ Mayor %IPP vs. Menor %IPP.

El resultado de la distribución de los animales según su IPP realizada con el *cluster* se muestra en la Tabla 6.

EXPERIMENTO 4				
Sexo	Machos		Hembras	
%IPP	Mayor	Menor	Mayor	Menor
n	11	8	15	9
X	26	4	28	-3

Tabla 6. Distribución de los animales según su IPP (*Cluster*).

El análisis de la ANOVA de un factor (Sexo) con la variable dependiente porcentaje de IPP reveló que no existían diferencias de sexo en la IPP [$F(1,41) < 1$; n.s.].

Resultados Laberinto elevado en cruz.

El ANOVA realizado para conocer las posibles diferencias en el porcentaje de tiempo en los brazos abiertos (sin centro) como medida de ansiedad mostró que ninguno de los grupos por Sexo y/o IPP se diferenciaba estadísticamente. De hecho no encontramos diferencias de Sexo [$F(1,38)= 1.303$; n.s.], ni entre los niveles de IPP [$F(1,38)= 0.177$; n.s.], ni entre la interacción Sexo x IPP [$F(1,38)= 0.043$; n.s.].

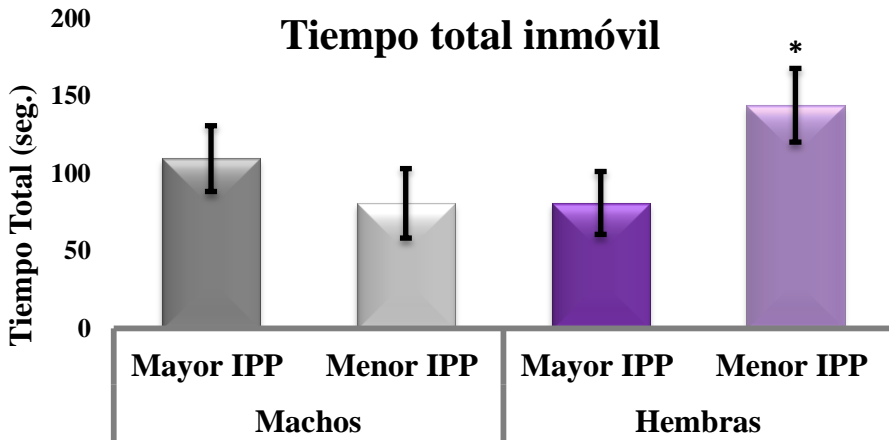
Tampoco encontramos diferencias significativas al realizar el ANOVA para saber si existían diferencias en el porcentaje de tiempo en los brazos abiertos total (con centro): Sexo [$F(1,38)= 0.019$; n.s.] ; IPP [$F(1,38)= 1.025$; n.s.]; Sexo x IPP [$F(1,38)= 0.033$; n.s.].

El ANOVA del porcentaje de entradas en los brazos abiertos, analizado también para conocer las posibles diferencias en el nivel de ansiedad entre los grupos, no mostró ninguna diferencias significativa: ni de Sexo [$F(1,38)= 1.643$; n.s.], ni de IPP [$F(1,38)= 0.023$; n.s.] y tampoco en la interacción Sexo x IPP [$F(1,38)= 0.345$; n.s.].

Y finalmente, el ANOVA de la distancia recorrida realizado para saber si existían diferencias en la actividad motora de los animales no mostró diferencias en ninguna de las variables analizadas: Sexo [$F(1,38)= 0.892$; n.s.]; IPP [$F(1,38)= 0.318$; n.s.]; Sexo x IPP [$F(1,38)= 0.857$; n.s.].

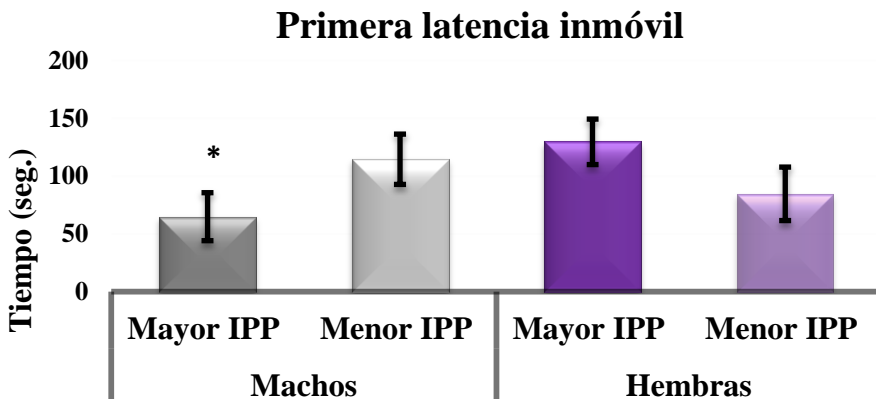
Resultados test de suspensión de la cola.

El ANOVA que realizamos para conocer si existían diferencias en tiempo total de inmovilidad entre las diferentes condiciones reveló que la interacción Sexo x IPP es significativa [$F(1,38)=4.391$; $p<0.044$]. En concreto, las hembras de menor IPP presentaron más tiempo total de inmovilidad que las hembras de mayor IPP ($p<0.05$). (ver Gráfica 20).



Gráfica 20. Diferencias en tiempo total de inmovilidad entre las hembras de mayor y menor IPP. * $p < 0.05$ vs. Mayor IPP.

También encontramos diferencias significativas en la interacción Sexo x IPP [$F(1,38) = 4.907$; $p < 0.034$] al realizar el ANOVA de la medida registrada latencia del primer momento de inmovilidad. En este caso, encontramos diferencias de sexo entre los animales de mayor IPP, los machos tuvieron una primera latencia mucho menor que las hembras ($p < 0.030$) (ver Gráfica 21).



Gráfica 21. Diferencias en la Latencia del primer momento de inmovilidad entre machos y hembras de mayor IPP. * $p < 0.05$ vs. Hembras Mayor IPP.

Resultados prueba preferencia por la novedad.

El ANOVA que realizamos para conocer si el número de *dips* era estadísticamente significativo entre las variables analizadas mostró que no existían diferencias entre ellas: Sexo [F(1,38)= 0.344; n.s]; IPP [F(1,38)= 2.285; n.s]; Sexo x IPP [F(1,38)= 0.741; n.s].

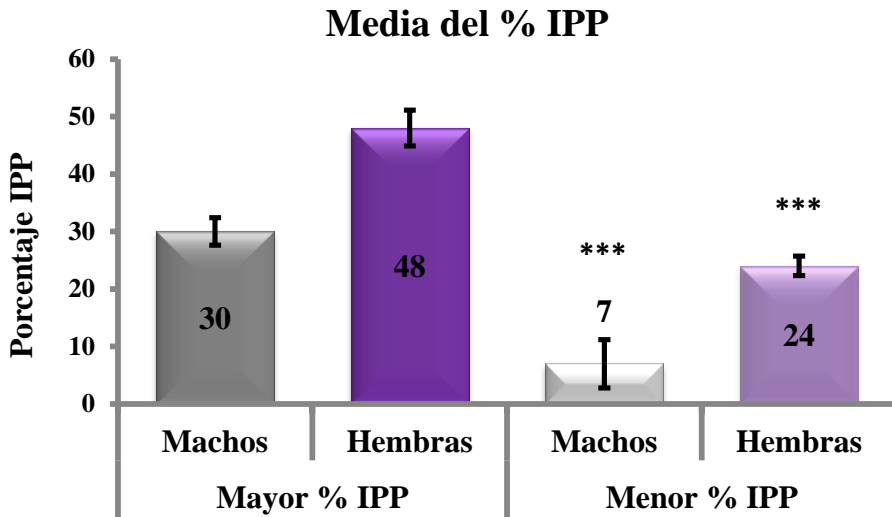
Así mismo, tampoco encontramos diferencias en el ANOVA de la medida registrada “Latencia del primer *dip*” ni por Sexo [F(1,38)= 0.443; n.s], ni por IPP [F(1,38)= 0.229; n.s] y tampoco en la interacción Sexo x IPP [F(1,38)= 1.834; n.s].

Y en último lugar, el ANOVA del número de bolos realizado para saber si existían diferencias en el nivel de ansiedad de los animales no mostró diferencias en ninguna de las variables analizadas: Sexo [F(1,38)= 2.372; n.s]; IPP [F(1,38)= 0.066; n.s]; Sexo x IPP [F(1,38)= 0.157; n.s].

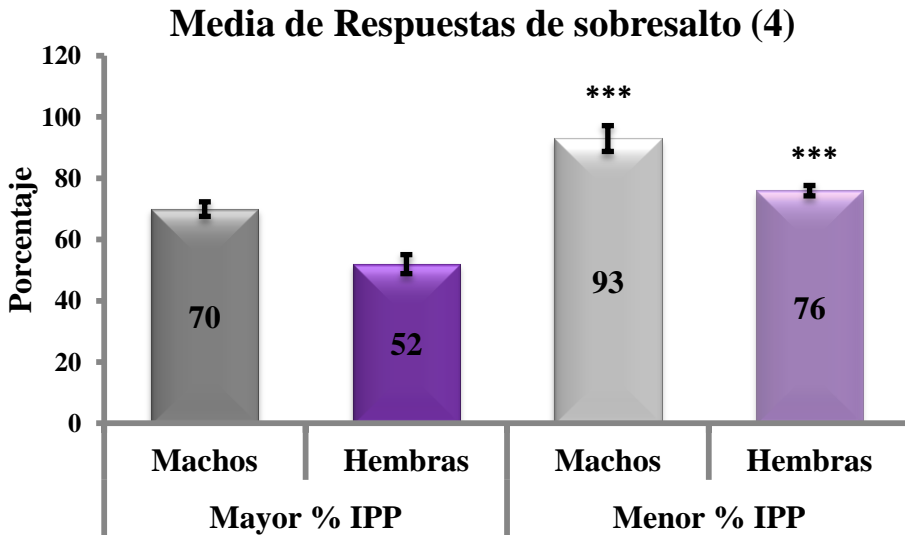
8.4.2. Resultados Experimento 5: IPP, campo abierto y condicionamiento de evitación inhibitoria.

Resultados en la IPP.

Se clasificaron en dos conglomerados de **K medias (cluster)** a los ratones dentro de cada sexo utilizando la media del porcentaje de los 4 resultados en la IPP (ver Tabla 7). Así determinamos dos grupos, los de mayor IPP y los de menor IPP, **Machos:** [F(1,28)=24.849; p<0.0001]; **Hembras:** [F(1,20)=56.945; p<0.0001], para posteriormente comparar el perfil de los animales según fuese su IPP (ver Gráficas 22 y 23).



Gráfica 22. Distribución de la muestra según %IPP (*cluster*).
 *** $p < 0.0001$ Mayor %IPP vs. Menor %IPP.



Gráfica 23. Distribución de la muestra según %IPP (*cluster*) de las 4 respuestas de sobresalto utilizadas en la prueba. *** $p < 0.0001$ Mayor %IPP vs. Menor %IPP.

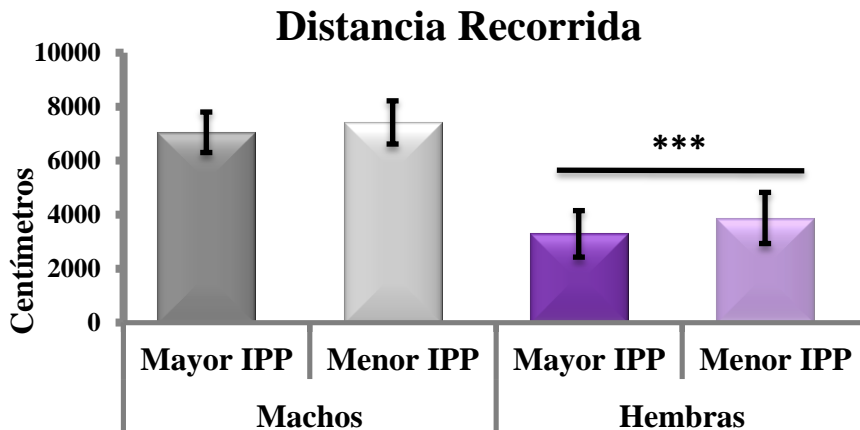
El resultado de la distribución de los animales según su IPP realizada con el *cluster* se muestra en la Tabla 7.

EXPERIMENTO 5				
Sexo	Machos		Hembras	
%IPP	Mayor	Menor	Mayor	Menor
n	21	9	8	14
X	30	7	48	24

Tabla 7. Distribución de los animales según su IPP (*Cluster*).

Resultados del campo abierto.

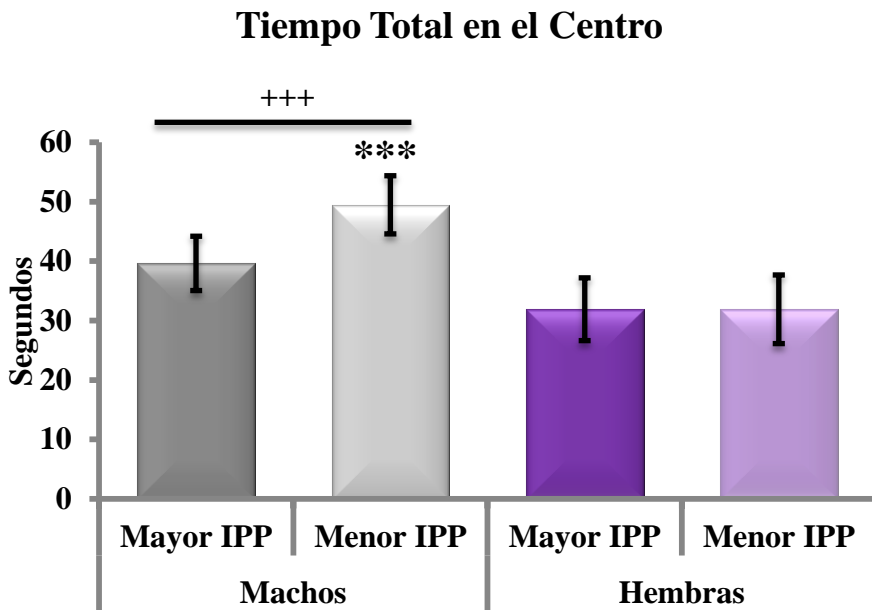
El ANOVA realizado para conocer las posibles diferencias en la **distancia recorrida** (medida de la actividad motora) de los animales mostró una diferencia significativa entre sexos [$F(1,48)=18.7828$; $p<0.0001$], evidenciando que los machos recorren una mayor distancia que las hembras (ver Gráfica 24). Sin embargo, no encontramos diferencias debidas a la IPP, ni en la interacción de la IPP con el Sexo.



Gráfica 24. Diferencias de sexo en la distancia recorrida en la prueba del Campo Abierto. *** $p<0.0001$ vs. Machos.

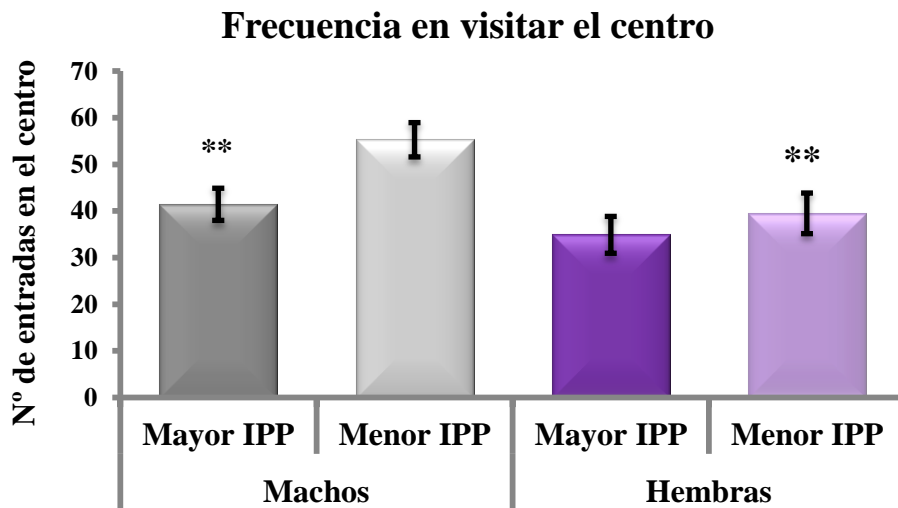
El ANOVA realizado para el **tiempo total en el centro** (segundos) mostró que existen diferencias significativas entre machos y hembras [$F(1,48)=8.091$; $p<0.007$], pasando los machos mayor tiempo total en el centro que las hembras. Por otro lado, no hay diferencias debidas a la IPP, ni a la interacción entre Sexo e IPP.

Aunque hemos comentado que la interacción entre Sexo e IPP no llegó a alcanzar la significación, en la Gráfica 25 se puede observar que las diferencias entre machos y hembras, se deben a los animales con menor IPP. De hecho, cuando se analizan las diferencias de Sexo en cada grupo de IPP por separado, solo se observan diferencias significativas entre los sexos en los animales de menor IPP [$F(1,48)=8.115$; $p<0.006$] y no en los de mayor IPP [$F(1,48)<2$; n.s.].



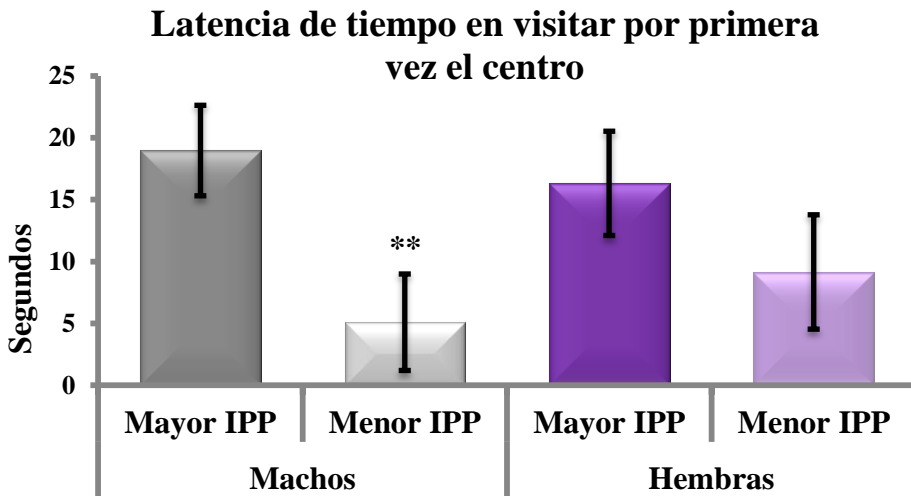
Gráfica 25. Diferencias de sexo en el tiempo total que el animal permanece en el centro del campo abierto. Diferencias entre el total de machos vs. total de hembras (+++ $p<0.001$ vs. Hembras) y según su IPP (** $p<0.001$ vs. Hembras de Menor IPP).

De nuevo, al analizar el ANOVA de la medida “**frecuencia en visitar el centro**”, aparecen diferencias significativas entre los sexos [$F(1,48)=8.307$; $p<0.006$], siendo los machos quienes visitan mayor número de veces el centro. También observamos diferencias significativas debidas a la IPP [$F(1,48)=5.672$; $p<0.021$], siendo los animales con menor IPP los que más veces visitan el centro en comparación con los de mayor IPP. No se encuentran diferencias significativas en la interacción entre Sexo e IPP ($F<2$). Sin embargo, al igual que anteriormente, cuando analizamos las diferencias de Sexo en cada grupo de IPP, observamos que estas diferencias sólo se dan entre los animales de menor IPP [$F(1,48)=7.699$; $p<0.008$], pero no entre los ratones de mayor IPP [$F(1,48)<2$; n.s.] (ver Gráfica 26). De igual manera, cuando evaluamos las diferencias entre los animales de mayor y menor IPP dentro de cada sexo, observamos que las diferencias significativas entre los grupos de animales de mayor y menor IPP se debe a los machos [$F(1,48)=7.584$; $p<0.008$] ya que no se observan en las hembras [$F(1,48)<1$; n.s.] (ver Gráfica 26).



Gráfica 26. Frecuencia en visitar el centro del campo abierto entre los diferentes sexos y según su respuesta en la IPP. ** $p<0.01$ vs. Machos con Menor IPP.

Además, el ANOVA realizado para conocer las posibles **diferencias en la latencia en visitar por primera vez el centro** del campo abierto nos muestra que únicamente existen diferencias significativas entre los animales según presenten mayor o menor IPP [$F(1,48)=6.532$; $p<0.014$], no aparece efecto alguno del Sexo ($F<1$) ni de la interacción entre Sexo e IPP ($F<1$), como ocurría en las medidas anteriores. Sin embargo, si analizamos por separado los sexos, comprobamos que las diferencias entre los grupos de mayor y menor IPP son significativas en los machos [$F(1,48)=6.725$; $p<0.013$], pero no llegan a serlo en las hembras [$F(1,48)<2$; n.s.] (ver Gráfica 27).



Gráfica 27. Latencia de tiempo (segundos) en visitar por primera vez el centro del campo abierto. ** $p<0.01$ vs. Machos Mayor IPP.

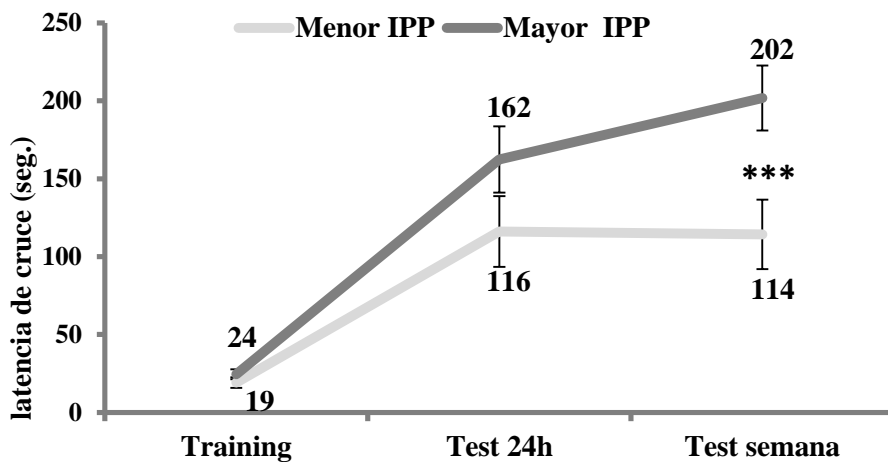
Resultados en el condicionamiento de evitación pasiva.

El ANOVA de medidas repetidas con las variables enter sexo (machos y hembras) e IPP y la variable intra Sesiones (con 4 niveles: *training*, *test24h*, *test72h* y *test semana*), mostró una tendencia a la significación en la interacción entre Sesiones x IPP. Debido a la similitud de los resultados encontrados en los tests a las 24h y a las

Estudio 2. Perfil Conductual

72h, llevamos a cabo una ANOVA solo con 3 sesiones: *training*, test24h y test semana.

Así, encontramos diferencias significativas en los animales según su IPP [$F(1,45)=7.222$; $p<0.01$], mostrando mayor latencias de cruce al compartimento oscuro en los ratones con mayor IPP que los de menor IPP. No hay diferencias significativas entre sexos, ni en la interacción Sexo x IPP ($F<2$). Sin embargo, observamos diferencias entre las Sesiones [$F(1,90)=42.011$; $p<0.0001$], y en la interacción entre Sesiones x IPP [$F(1,90)=3.245$; $p<0.044$]. Las comparaciones post-hoc ponen de manifiesto que todos los animales incrementan significativamente su latencia de cruce al compartimento oscuro en el test 24h y en el test semana en comparación con el *training* ($p<0.0001$), no observándose diferencias significativas entre los tests dentro de cada grupo de IPP. Pero sí que presentaron latencias significativamente más largas los animales con mayor IPP que los de menor IPP en el test semana ($p<0.006$) (ver Gráfica 28).

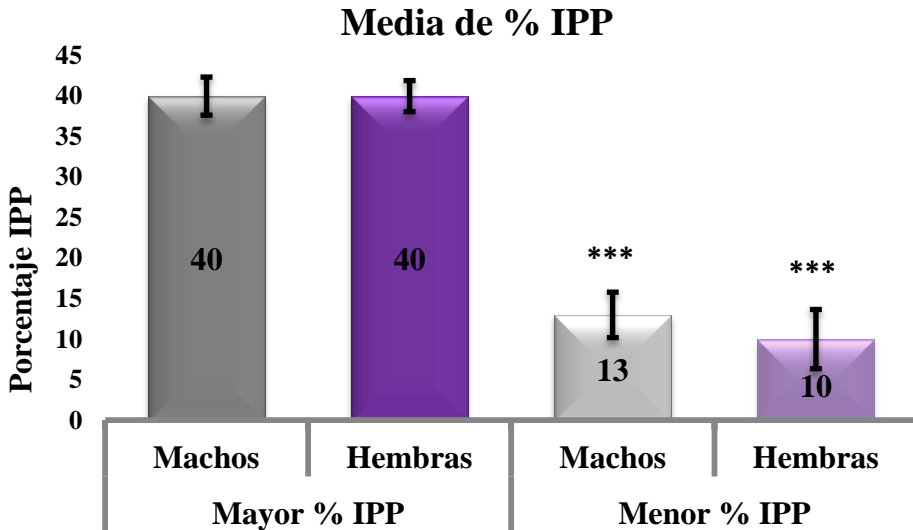


Gráfica 28. Latencia de cruce al compartimento oscuro (media \pm error estándar) en las tres sesiones realizadas del condicionamiento (*Training*, Test 24h y Test Semana) y clasificando a los animales según sea mayor o menor su IPP. *** $p<0.0001$ Menor IPP vs. Mayor IPP en el Test semana.

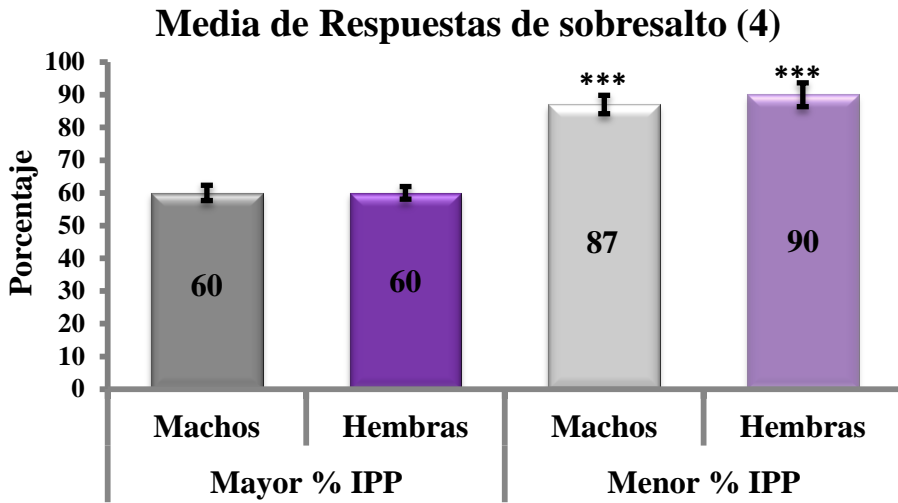
8.4.3. Resultados Experimento 6: IPP, reconocimiento del objeto novedoso, interacción social y laberinto Hebb-Williams.

Resultados en la IPP.

La distribución significativa de los cuatro grupos de animales con el análisis de conglomerado de K medias según la media del porcentaje de los 4 resultados en la IPP se puede observar en la Tabla 8. **Machos:** [F(1,38)=51.803; p<0.0001]; **Hembras:** [F(1,36)=66.385; p<0.0001] (ver Gráficas 29 y 30).



Gráfica 29. Distribución de la muestra según %IPP (cluster).
 *** p<0.0001 Mayor % IPP vs. Menor % IPP.



Gráfica 30. Distribución de la muestra según %IPP (cluster) de las 4 respuestas de sobresalto utilizadas en la prueba. *** $p < 0.0001$ Mayor % IPP vs. Menor % IPP.

El resultado de la distribución de los animales según su IPP realizada con el *cluster* se muestra en la Tabla 8.

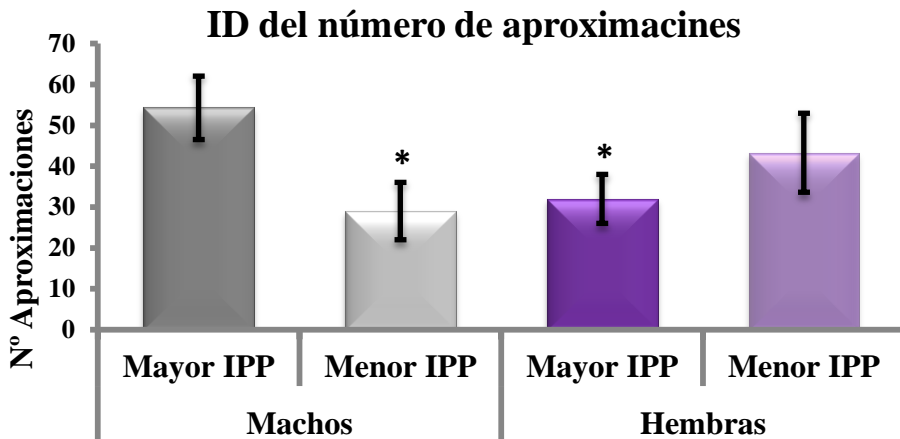
EXPERIMENTO 6				
Sexo	Machos		Hembras	
%IPP	Mayor	Menor	Mayor	Menor
n	19	21	26	12
X	40	13	40	9

Tabla 8. Distribución de los animales según su IPP (*Cluster*).

El análisis de la ANOVA de un factor (Sexo) con la variable dependiente media del porcentaje de los 4 resultados en la IPP reveló que no existían diferencias de sexo en la IPP [$F(1,76) < 1$; n.s.].

Resultados reconocimiento del objeto novedoso.

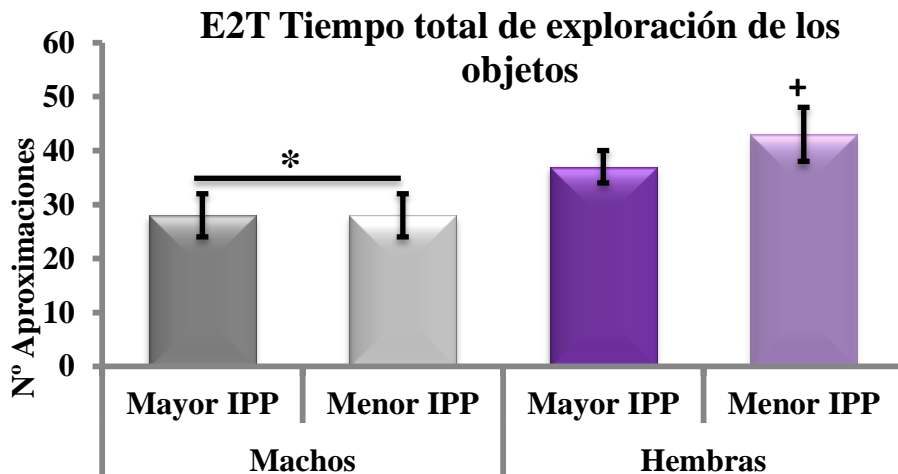
El ANOVA del índice de discriminación del tiempo (IDT) al objeto novedoso no mostró ningún efecto significativo en las variables analizadas. En cambio, el ANOVA del número de aproximaciones (IDA) al objeto novedosos no muestra diferencias significativas debidas a la IPP (n.s), pero sí muestra diferencias en la interacción Sexo x IPP [$F(1,71)=5.551$; $p<0.020$]. En concreto, los machos de mayor IPP presentaron un mayor reconocimiento del objeto novedoso por el número de aproximaciones que las hembras de mayor IPP, por tanto el IDA fue mayor en los machos que en las hembras ($p<0.026$). Así mismo, los machos de mayor IPP mostraron también un mayor IDA que los de menor IPP ($p<0.020$), por tanto los animales de mayor IPP mostraron una mayor discriminación del objeto novedoso que los de menor IPP (ver Gráfica 31).



Gráfica 31. Diferencias en la variable Sexo x IPP, el IDA fue mayor en los machos Mayor IPP que en las hembras de Mayor IPP y en los machos de Menor IPP. * $p<0.05$ vs. Machos Mayor IPP.

Finalmente, el ANOVA del tiempo total de exploración de los dos objetos (E2T) no encontramos diferencias significativas debidas a

la IPP ($F < 1$). En cambio, sí que mostró un efecto significativo de la variable Sexo [$F(1,71)=10.020$; $p < 0.002$]. Las hembras en general muestran un tiempo total de exploración de ambos objetos mayor que los machos ($p < 0.002$). Aunque la interacción Sexo x IPP no alcanzó la significación [$F(1,71)=0,518$; n.s.], los resultados nos indican que cuando separamos los ratones según su IPP comprobamos que las diferencias de sexo fueron estadísticamente significativas solo en los animales de menor IPP [$F(1,71)=6.423$; $p < 0.013$] (ver Gráfica 32). En cambio, el ANOVA del número de aproximaciones a los dos objetos (E2A) no mostró ningún efecto significativo en ninguna de las variables.



Gráfica 32. Las hembras en general muestran un tiempo total de exploración de ambos objetos mayor que los machos; en concreto, las hembras de menor IPP son las que muestran un mayor tiempo de exploración total que los machos de menor IPP.* $p < 0.05$ vs. Hembras; + $p < 0.05$ vs. Machos Menor IPP.

Resultados de la interacción social.

El ANOVA del tiempo nos reveló un efecto significativo de la variable Sexo [$F(11,64)=2.113$; $p < 0.030$], en concreto los machos

pasaron más tiempo que las hembras escarbando ($p < 0.006$), explorando a distancia ($p < 0.013$), amenazando ($p < 0.010$) e inmóviles ($p < 0.011$). En cambio las hembras pasaron más tiempo realizando la conducta de exploración social ($p < 0.020$) (ver Tabla 9).

Así mismo el ANOVA del número de concurrencias reveló un efecto también significativo de la variable Sexo [$F(11,64)=3.123$; $p < 0.002$]. Los machos mostraron un mayor número de concurrencias que las hembras en las conductas de escarbar ($p < 0.008$), no social ($p < 0.0001$), exploración social ($p < 0.039$), amenaza ($p < 0.007$) e inmóvil ($p < 0.005$) (ver Tabla 10).

En cambio, el ANOVA de la primera latencia no reveló ningún efecto significativo ni en la variable Sexo [$F(11,64)=1.589$;n.s.], ni en la variable IPP [$F(11,64)=0.609$ n.s.] ni en la interacción Sexo x IPP [$F(11,64)=1.045$ n.s.].

Tabla 9. Medias de los tiempos acumulados (en segundos) con \pm SEM. Diferencias significativas entre los sexos en la media de los tiempos acumulados en varias conductas espontáneas * $p < 0.05$ vs Hembras.

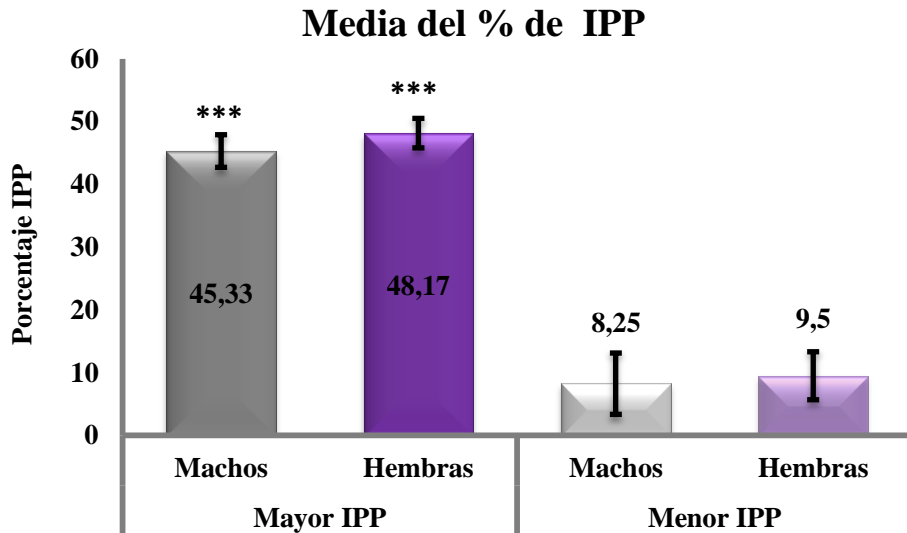
Media del tiempo en conductas	Machos	Hembras
Sexual	0.105 \pm 0.9	2.4 \pm 1
Aseo	15.2 \pm 2.6	11.9 \pm 2.9
Escarbar	41.7 \pm 5.3*	19.3 \pm 5.9
No Social	405.7 \pm 13.8	418.7 \pm 15.2
Exp.Distancecia	14.1 \pm 3*	2.6 \pm 3.3
Exp. Social	96.1 \pm 12.4*	140.3 \pm 13.7
Amenaza	11.8 \pm 2.9*	0.2 \pm 3.2
Ataque	10 \pm 3.7	3.1 \pm 4.1
Huida	1.1 \pm 0.4	1.1 \pm 0.5
Defensa	2.7 \pm 1.1	0 \pm 1.2
Inmóvil	1.1 \pm 0.3*	0 \pm 0.3

Tabla 10. Media del número de concurrencias acumuladas con \pm SEM. Diferencias significativas entre los sexos en la media del número de concurrencias acumuladas en varias conductas espontáneas * $p < 0.001$ vs Hembras.

Número concurrencias en conductas	Machos	Hembras
Sexual	0.02 \pm 0.1	0.4 \pm 0.1
Aseo	1.6 \pm 0.2	1.6 \pm 0.2
Escarbar	6.6 \pm 0.6*	3.9 \pm 0.7
No Social	20.7 \pm 0.8*	15.1 \pm 0.9
Exp. Distancia	3.3 \pm 1.3	4.8 \pm 1.4
Exp. Social	13.3 \pm 1*	10.2 \pm 1.1
Amenaza	3.3 \pm 0.7*	0.2 \pm 0.8
Ataque	1.5 \pm 0.4	0.3 \pm 0.5
Huída	0.5 \pm 0.2	0.3 \pm 0.2
Defensa	0.7 \pm 0.3	0 \pm 0.3
Inmóvil	0.3 \pm 0.09*	0 \pm 0.09

Resultados del laberinto Hebb-Williams.

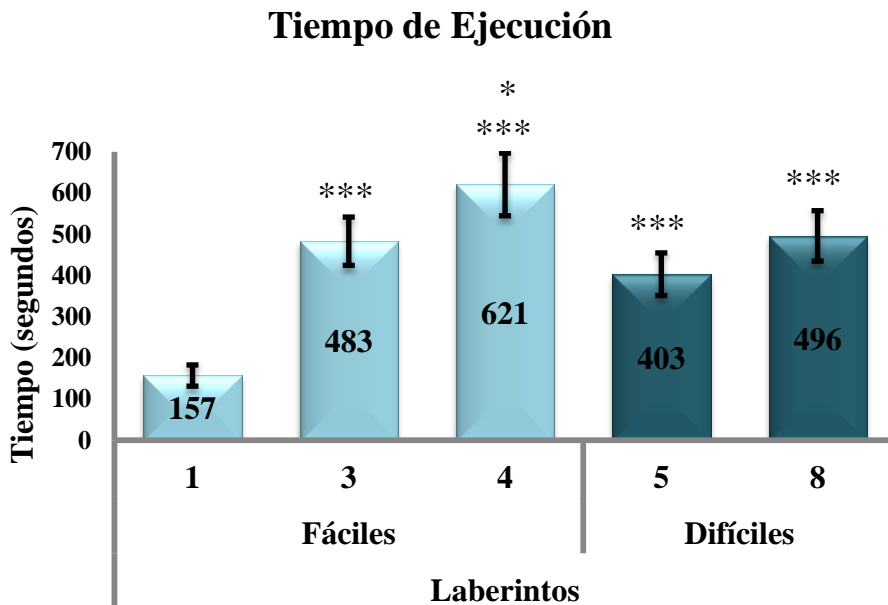
El ANOVA con los 12 animales por grupo (elegidos del total de animales que realizaron la IPP del Experimento 6) para la prueba del laberinto Hebb-Williams, nos mostró que las diferencias de IPP se mantenían entre los grupos [$F(3,48)=41.314$; $p < 0.0001$], dentro de cada sexo: Machos Mayor IPP, $n=12$ media=45 vs. Machos Menor IPP, $n=12$ media=8 ($p < 0.0001$); Hembras Mayor IPP, $n=12$ media=48 vs. Hembras Menor IPP, $n=12$ media=9 ($p < 0.0001$); no encontrándose diferencias debidas al sexo (ver Gráfica 33).



Gráfica 33. Diferencias mantenidas en el porcentaje medio de IPP entre los dos grupos de IPP que realizarán la siguiente prueba (n=12). *** $p < 0.0001$ grupo Mayor IPP vs. grupo Menor IPP.

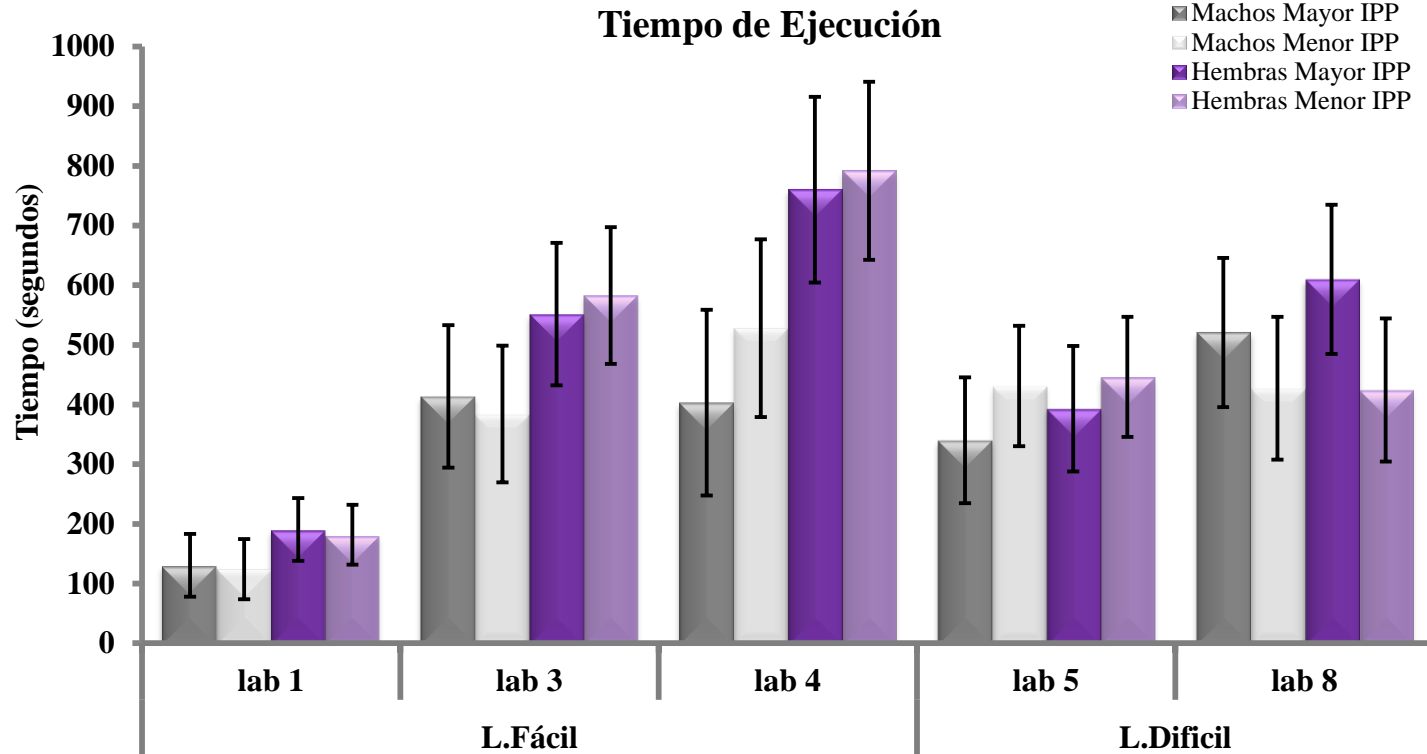
- **Tiempo de ejecución.**

El ANOVA del tiempo medio que tarda el animal en realizar los 8 ensayos de cada laberinto nos muestra diferencias estadísticamente significativas en la variable Laberinto [$F(4,39)=11.126$; $p < 0.001$]. En el análisis Post-hoc se observa que los animales tardan significativamente menos tiempo en la realización del Laberinto 1 en comparación con los Laberintos 3 ($p < 0.001$), 4 ($p < 0.001$), 5 ($p < 0.001$), y 8 ($p < 0.001$). Además, observamos que los ratones tardaron significativamente más tiempo en ejecutar el Laberinto 4 que el 5 ($p < 0.05$) (ver Gráfica 34).



Gráfica 34. Diferencias en el tiempo medio (en segundos) en la ejecución de los laberintos sin distinción de grupos (Sexo e IPP). *** $p < 0.001$ vs. Laberintos 1; * $p < 0.05$ vs. Laberinto 5.

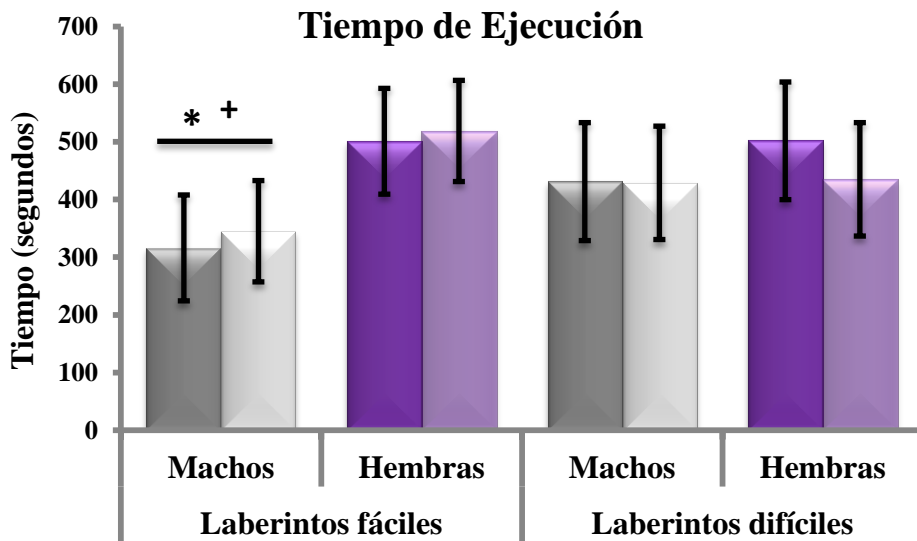
Por otro lado, la ANOVA del tiempo total no nos muestra diferencias estadísticamente significativas en las variables Sexo e IPP por separado, ni tampoco en las interacciones [$F(4,39) < 1$; n.s.] (ver Gráfica 35).



Gráfica 35. Tiempo Total en la ejecución de los distintos laberintos del test Hebb-Williams en función de sexo e IPP. (No existen diferencias significativas).

El ANOVA del tiempo medio de ejecución de los laberintos, distinguiendo los fáciles de los difíciles, nos muestra que no existen diferencias significativas debidas a la variable Sexo, ni a la IPP, ni tampoco a la Dificultad de los laberintos [$F(1,42) < 1.5$; n.s.]. Por lo que respecta a la interacción Sexo x IPP, se observa que tampoco hay diferencias significativas [$F(1,42) < 1$; n.s.].

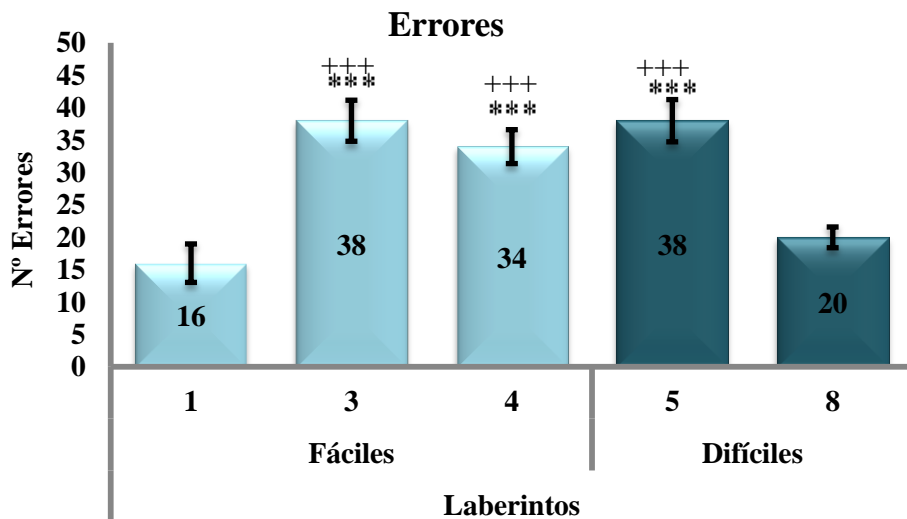
Solamente se pueden ver diferencias significativas en la interacción Sexo x Dificultad del laberinto [$F(1,42) = 5.174$; $p < 0.05$]. Concretamente hay diferencias de sexo en el tiempo medio de los laberintos fáciles, mostrando que los machos tardaron menos tiempo que las hembras en la ejecución de estos laberintos ($p < 0.05$). Así mismo, también se observa que los machos tardaron menos tiempo en realizar los fáciles en comparación con los difíciles ($p < 0.05$), no mostrándose esta diferencia en las hembras ($p > 0.05$) (ver Gráfica 36)



Gráfica 36. Diferencias en el tiempo medio de ejecución de los laberintos fáciles vs. difíciles según Sexo x Dificultad del Laberinto x IPP. * $p < 0.05$ vs. Hembras en los Laberintos fáciles; + $p < 0.05$ vs. Laberintos difíciles en los machos.

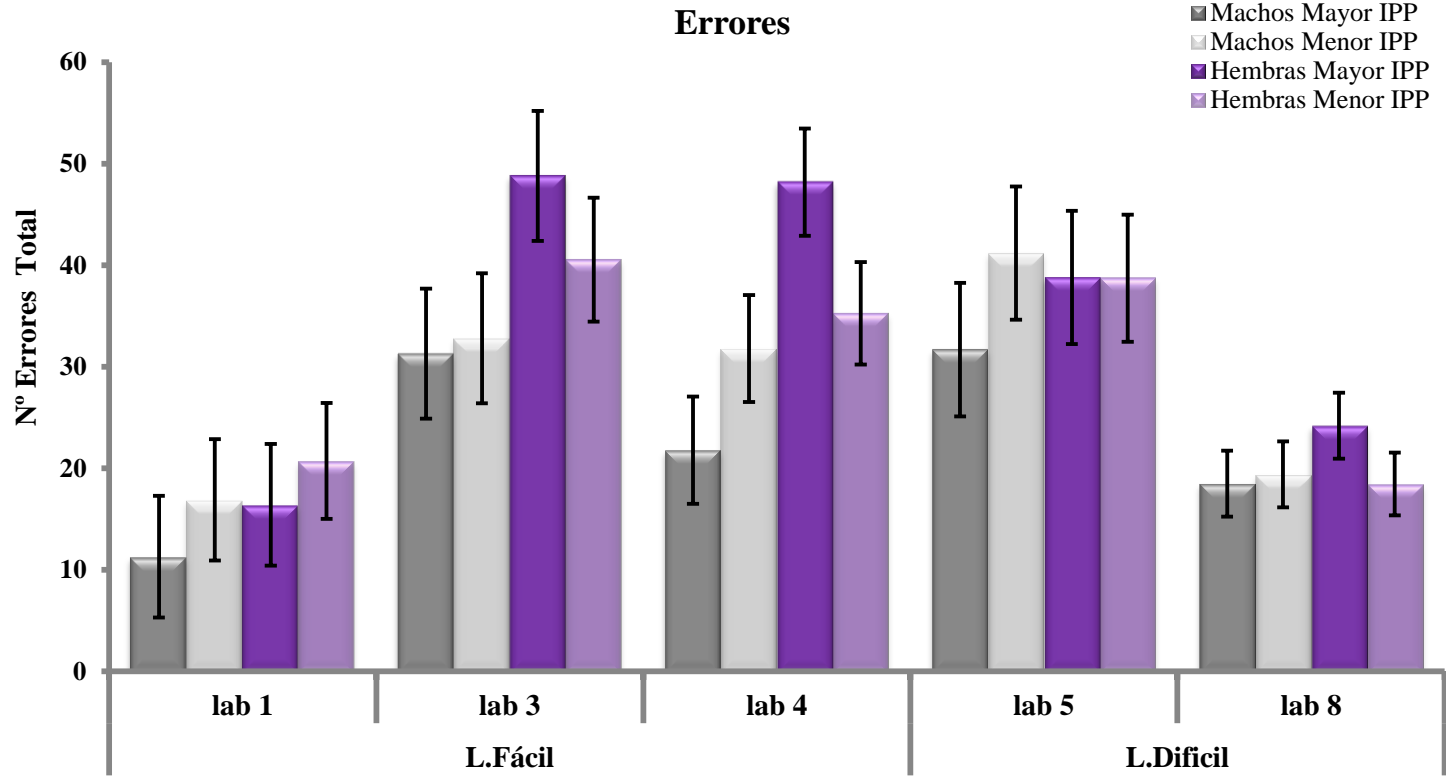
- **Errores durante la ejecución.**

El ANOVA nos muestra diferencias estadísticamente significativas en la variable Laberinto [$F(4,34)=18.973$; $p<0.001$]. Concretamente, y tal y como se puede observar en el análisis post-hoc, los Laberintos 3 ($p<0.001$), 4 ($p<0.001$) y 5 ($p<0.001$) difieren estadísticamente con el Laberinto 1; siendo este último más fácil ya que los animales cometieron menos errores en su ejecución y entraron más veces en las zonas de error de los laberintos 3, 4 y 5. También se observa que los Laberintos 3 ($p<0.001$), 4 ($p<0.001$) y 5 ($p<0.001$) difieren significativamente del Laberinto 8. Los ratones cometieron menos errores en la ejecución del laberinto 8 y más en la ejecución de los laberintos 3, 4 y 5 (ver Gráfica 37).



Gráfica 37. Diferencias en la media de los errores cometidos de todos los animales en cada laberinto del Hebb-Williams. *** $p<0.001$ vs. Laberinto 1; +++ $p<0.0001$ vs. Laberinto 8.

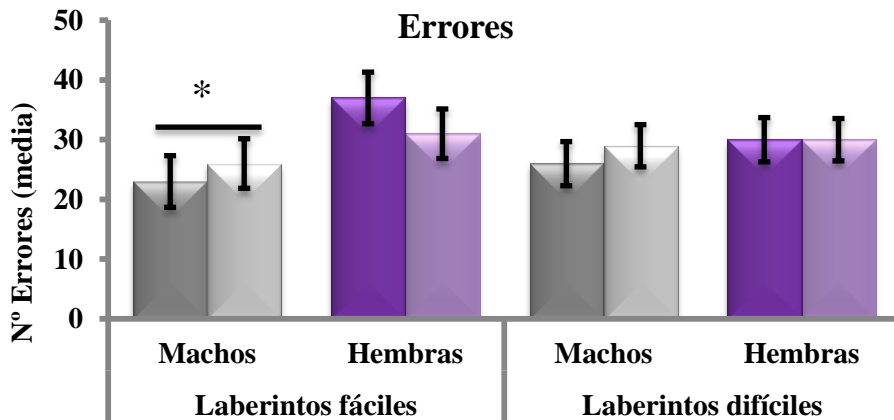
El ANOVA no nos muestra diferencias significativas debidas al Sexo ni a la IPP en las demás variables analizadas, así como tampoco en las interacciones de estas variables con el factor Laberinto [$F(4,34)<1$; n.s.] (ver Gráfica 38).



Gráfica 38. Cantidad total de errores cometidos en cada configuración de laberinto del Hebb-Williams, en función del Sexo e IPP. (No existen diferencias significativas).

Por otro lado, y tal y como nos muestra el ANOVA en el análisis de los errores en función de la dificultad de cada laberinto (fácil, difícil), podemos observar que no se encuentran diferencias estadísticamente significativas en la variable Dificultad del Laberinto, así como tampoco en las interacciones Dificultad del Laberinto x IPP y Dificultad del Laberinto x Sexo x IPP [$F(1,42) < 1$; n.s.].

Solamente se encuentra un efecto de la interacción Sexo x Dificultad del laberinto [$F(1,42) = 4.599$; $p < 0.05$]. Esta diferencia reside concretamente en los laberintos fáciles; los machos entraron menos veces que las hembras en las zonas de error ($p < 0.05$) (ver Gráfica 39). Por lo que respecta a los laberintos difíciles, no se encuentran diferencias de sexo significativas.

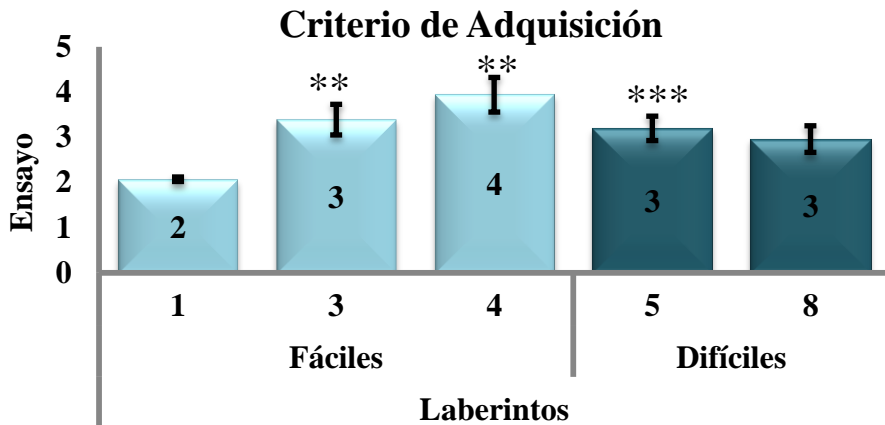


Gráfica 39. Diferencias de Sexo en la media de errores cometidos tras la ejecución de los laberintos fáciles vs. difíciles. * $p < 0.05$ vs. Hembras en Laberintos fáciles.

- ***Criterio de Adquisición.***

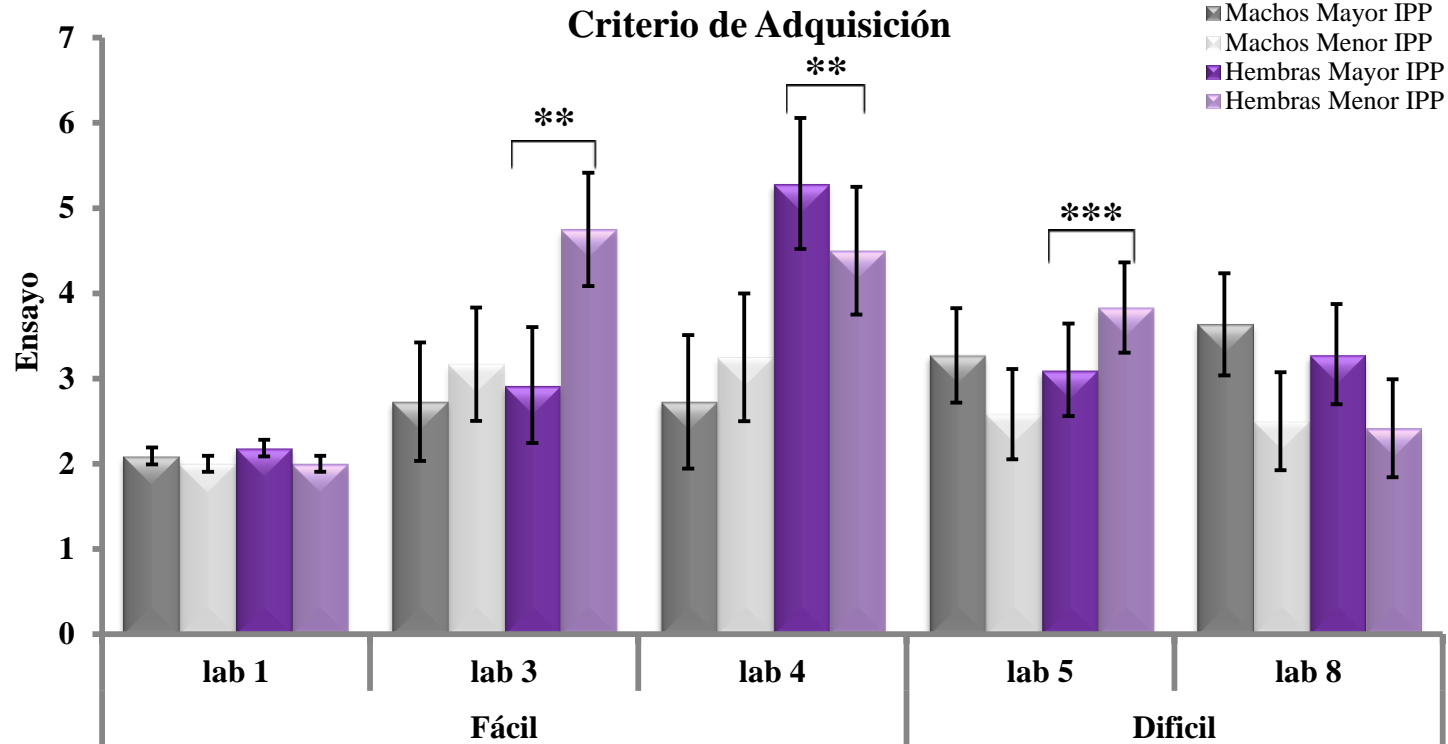
El ANOVA de la variable Laberintos-Criterio de Adquisición solamente nos muestra un efecto de la variable *Laberinto* [$F(4,39) = 7.756$; $p < 0.001$]. Según observamos en el análisis post-hoc,

el Laberinto 1 difiere estadísticamente de los Laberintos 3 ($p<0.01$), 4 ($p<0.01$) y 5 ($p<0.001$); los sujetos experimentales necesitaron un número menor de ensayos para aprender la ejecución del Laberinto 1 en comparación con los otros laberintos de los que difiere (3, 4 y 5), en los que necesitaron más ensayos para aprender su realización (ver Gráfica 40).



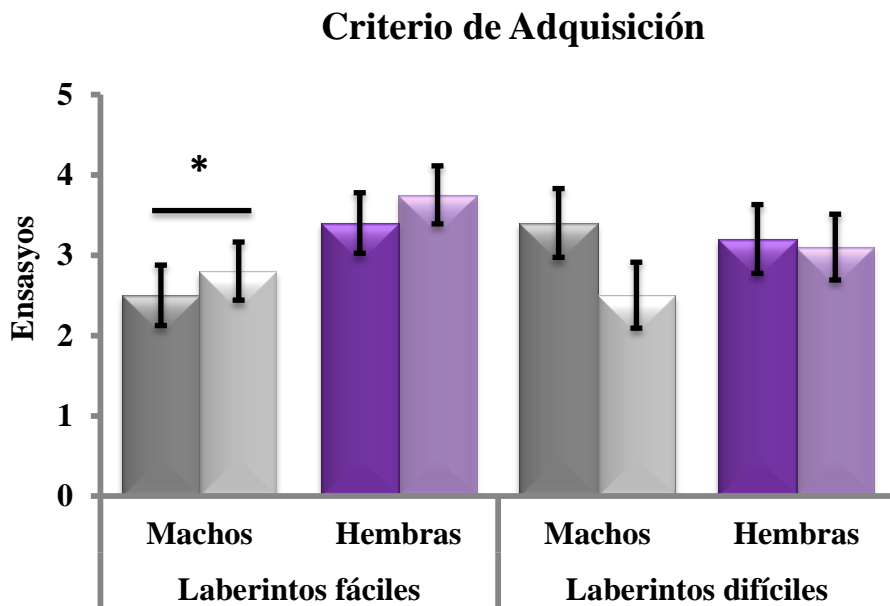
Gráfica 40. Diferencias en el criterio de adquisición en función del tipo del laberinto Heb-Williams. *** $p<0.001$ vs. Laberinto 1; ** $p<0.01$ vs. Laberinto 1.

Por otro lado, en el ANOVA no se observan diferencias significativas en las variables Sexo [$F(1,42)<3.273$; $p>0.05$.] e IPP [$F(1,42)<1$; n.s.], así como tampoco en interacción entre ellas [$F(1,42)<1$; n.s.] ni con la variable Laberinto [$F(4,39)<1$; n.s.]. Pese a esta falta de significación, el análisis post-hoc señala que las hembras difieren en el Laberinto 1 en comparación con los Laberintos 3 ($p<0.01$), 4 ($p<0.01$) y 5 ($p<0.001$), adquiriendo un aprendizaje más rápido en el Laberinto 1 que en los demás en los que difiere. También se encuentran diferencias significativas en el Laberinto 4 en comparación con el Laberinto 5 ($p<0.05$): para las hembras fue necesario un número mayor de ensayos para aprender la ejecución del Laberinto 4 y menos ensayos para aprender a ejecutar el Laberinto 5 (ver Gráfica 41).



Gráfica 41. Diferencias en el criterio de adquisición en cada laberinto tras la ejecución del test Hebb-Williams según Sexo e IPP. *** $p < 0.001$ vs Laberinto 1 en hembras; ** $p < 0.01$ vs Laberinto 1 en hembras.

En cuanto al análisis de la variable Criterio de adquisición-Dificultad del Laberinto, el ANOVA nos muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas en el factor Dificultad del Laberinto [$F(1,42) < 1$; n.s.], así como tampoco en la interacción Dificultad del Laberinto x Sexo x IPP [$F(1,42) < 1$; n.s.]. Solamente encontramos un efecto en la interacción Sexo x Dificultad del Laberinto [$F(1,42) = 4.689$; $p < 0.05$]. En las comparaciones por pares se observa que las diferencias se deben concretamente a una ventaja de los machos sobre las hembras en los laberintos fáciles; ellos necesitaron menos ensayos que ellas para aprender la realización de los laberintos fáciles ($p < 0.05$). No obstante, esta diferencia de sexo no se observa en la ejecución de los laberintos difíciles (ver Gráfica 42).



Gráfica 42. Diferencias en el criterio de adquisición en la ejecución de los Laberintos fáciles vs. difíciles. * $p < 0.05$ vs. Hembras en Laberintos fáciles.

RESUMEN RESULTADOS CONDUCTUALES

	TEST	MEDIDAS	RESULTADOS debidas a IPP	
V A R I A B L E S C O N D U C T U A L E S	Campo Abierto	Distancia recorrida	MayorIPP=menorIPP	
		Tiempo total en centro	MayorIPP=menorIPP	
		Latencia en visitar centro	MayorIPP>menorIPP (Machos MayorIPP>Machos menorIPP)	
		Frecuencia en visitar centro	MayorIPP<menorIPP (Machos menorIPP>Machos MayorIPP; Machos menorIPP>Hembras menorIPP)	
	Preferencia por la novedad (Hole-board)	Latencia del primer <i>dip</i>	MayorIPP=menorIPP	
		Número de <i>dips</i>	MayorIPP=menorIPP	
		Número de bolos	MayorIPP=menorIPP	
	Interacción social	Latencia en realizar las conductas	MayorIPP=menorIPP	
		Tiempo dedicado a las conductas	MayorIPP=menorIPP	
		Nº de concurrencias de las conductas	MayorIPP=menorIPP	
	P E R F I L C O G N I T I V O	Reconocimiento del Objeto Novedoso	Índice de discriminación del tiempo (IDT)	MayorIPP=menorIPP
			Índice del número de aproximaciones (IDA)	Machos MayorIPP>Machos menorIPP; Machos MayorIPP>Hembras MayorIPP
Tiempo de exploración total de los dos objetos (E2T)			MayorIPP=menorIPP	
Número de aproximaciones totales de los dos objetos (E2A)			MayorIPP=menorIPP	
Laberinto Hebb-Williams		Tiempo de ejecución	MayorIPP=menorIPP	
		Errores durante la ejecución	MayorIPP=menorIPP	
		Criterio de adquisición	MayorIPP=menorIPP	
Condicionamiento de Evitación Pasiva		Latencias de cruce (24h y semana)	MayorIPP>menorIPP en total y a la semana	
P S I Q U I T O L O G Í A	Laberinto elevado en cruz	% Tiempo en brazos abiertos	MayorIPP=menorIPP	
		Distancia recorrida	MayorIPP=menorIPP	
	Suspensión de la cola	Latencia inmovilidad	Machos MayorIPP<Hembras MayorIPP	
		Tiempo total de inmovilidad	Hembras MayorIPP<Hembras menorIPP	



DISCUSIÓN

El objetivo principal de nuestro estudio fue evaluar la capacidad de la inhibición pre-pulso (IPP) como marcador psicofisiológico para detectar los ratones más sensibles a los efectos de la cocaína, concretamente establecer una asociación más duradera entre las claves del ambiente y las propiedades reforzantes de la droga. El principal resultado de nuestro estudio confirma nuestra hipótesis de partida, puesto que como habíamos pronosticado, la prueba de IPP predice la sensibilidad de los ratones a los efectos reforzantes condicionados de la cocaína en el CPL con todas las dosis evaluadas y tanto en machos como en hembras. Los ratones con una mayor IPP presentaron una preferencia por el compartimento asociado a la droga con dosis menores de cocaína, mientras que, los que mostraron una menor IPP necesitaron una dosis mayor para establecer dicha preferencia condicionada. Al mismo tiempo, los animales con una menor IPP, una vez establecida la asociación de las claves ambientales con la droga, ésta fue mucho más duradera y persistente, mostrando una menor capacidad para poder extinguir la preferencia condicionada y de manera particular en cada sexo.

Tras determinar las diferencias entre los animales con mayor o menor IPP encontradas en el CPL inducido con cocaína, nuestro segundo propósito fue evaluar si los ratones clasificados según su IPP presentaban también diferencias en su perfil cognitivo-comportamental que pudiesen explicar su diferente actuación en el CPL. Debemos tener presente que la expresión de los efectos reforzantes de las drogas de abuso medida en el paradigma del CPL se realiza a través de procesos superiores, como son el aprendizaje (adquisición) y la memoria (recuerdo), debido a la asociación que se establece entre los estímulos ambientales y ciertos estados inducidos por las drogas de abuso (Tzschentke, 2007; Aguilar y cols., 2009). Además, procesos de neuroplasticidad asociados a la facilitación de la extinción de la memoria de los efectos reforzantes condicionados a las claves ambientales son extremadamente importantes para el tratamiento de la dependencia a las drogas de abuso (Mori y cols.,

2013). Así, el segundo resultado principal de nuestro estudio demuestra que los animales con una mayor o menor IPP presentan pequeñas diferencias en su perfil cognitivo-comportamental, que ayudan a comprender mejor cómo la respuesta en la IPP discrimina a los sujetos más vulnerables a los efectos reforzantes condicionados de la cocaína. Es decir, determinan que el rasgo de IPP de los animales no influye en la ejecución del CPL, y por tanto sí en las propiedades asociativas de la cocaína evaluadas en este paradigma. En resumen, nuestros resultados indican por primera vez que la respuesta de los animales en la IPP no solo puede predecir su sensibilidad a los efectos reforzantes condicionados de la cocaína, sino además su vulnerabilidad a desarrollar una conducta de búsqueda compulsiva de la droga.

Concretamente, los resultados obtenidos en nuestro estudio con el paradigma del CPL muestran que los ratones con una menor IPP son los que no presentaron preferencia por el compartimento asociado a la droga con dosis bajas (1 y 6 mg/kg de cocaína); mientras que los animales que mostraron una mayor IPP, sí que establecieron dicha preferencia. Con estos resultados podemos afirmar que los animales de mayor IPP son los más sensibles a los efectos reforzantes de las drogas, ya que se condicionan con dosis más bajas; pero ¿son más vulnerables a desarrollar un uso compulsivo de la droga? Y sabiendo que la cocaína induce CPL con un amplio rango de dosis que van desde 3 a 50 mg/kg (Seale y Carney, 1991; Cunningham y cols., 1999; Zhang y cols., 2002; Brabant y cols., 2005, Maldonado y cols., 2006), otra cuestión que se nos plantea es ¿por qué los animales de menor IPP no mostraron preferencia con una dosis de cocaína efectiva (6 mg/kg)?

Sabemos que una escasa sensibilidad a los efectos reforzantes de la droga puede llevar a un mayor uso ocasional con dosis mayores y esto puede ser debido a que los estados asociados a las drogas de abuso pueden ser percibidos como menos aversivos tal y como se ha

descrito en la población adolescente (Rodríguez-Arias y Aguilar, 2012). Está ampliamente documentado que el uso continuado y a dosis altas de cocaína provoca una alteración del sistema dopaminérgico que conlleva procesos neurodegenerativos y daño cerebral que explican las consecuencias negativas del consumo de cocaína (ver revisión Pereira y cols., 2015). Efectivamente, en nuestro estudio, los animales de menor IPP necesitaron una dosis mayor para mostrar los efectos reforzantes de la cocaína, ya que adquirieron el CPL de forma similar a los de mayor IPP con la dosis de 12.5 mg/kg. La menor sensibilidad de los ratones con una menor IPP fue también observada en un estudio donde se evaluaron los efectos motores inducidos por anfetamina (Peleg-Raibstein y cols., 2013). La administración de una dosis de 2.5 mg/kg de anfetamina produjo una respuesta motora inicial menor en los ratones con una menor IPP que en los de mayor IPP. En cambio, estos mismos animales mostraron una sensibilización motora mucho mayor en la segunda administración de la misma dosis de anfetamina, en comparación con los ratones de mayor IPP (Peleg-Raibstein y cols., 2013). En nuestro estudio, también observamos que una vez adquirida la preferencia condicionada en los ratones con menor IPP, esta fue mucho más persistente y duradera en el tiempo que en los de mayor IPP. Los machos de menor IPP nunca llegaron a mostrar una extinción de la preferencia a diferencia de los de mayor IPP, y las hembras de menor IPP reinstauraron la preferencia del CPL con dosis *priming* menores (3.12 mg/kg de cocaína) que los grupos de mayor IPP. La mayor persistencia en mantener conductas de búsqueda del refuerzo en los ratones machos con una menor IPP, ha sido también observada en un estudio previo de Freudenberg y cols., (2007). Concretamente, ratas con una menor IPP obtenidas por reproducción selectiva (*selective breeding*) según su baja o alta IPP, mostraron una mayor perseverancia que las de mayor IPP en una tarea operante reforzada con comida, presionando la palanca para recibir el refuerzo (comida) un mayor número de veces aun cuando ésta ya no era efectiva para obtenerlo. Por tanto, se mostraban incapaces de ajustar su

comportamiento cuando se requería cambiarlo para conseguir la recompensa. En el mismo estudio, observaron que la poca flexibilidad en la conducta condicionada también se corroboraba en la tarea del laberinto radial, puesto que, los animales de menor IPP no eran capaces de cambiar su conducta, adaptándose a los cambios de estrategia en la tarea espacial (de una posición egocéntrica a una aloécéntrica respecto al objetivo a conseguir) (Freudenberg y cols., 2007).

La persistencia en la respuesta condicionada observada en los machos con una menor IPP de nuestro estudio puede ser considerada un reflejo de una mayor motivación por la droga, ya que, a través de la evaluación de la extinción podemos obtener una medida reveladora de las propiedades motivacionales de la cocaína, la cual es evidente por la persistencia de la búsqueda de la droga en ausencia de la misma (Aguilar y cols., 2009; Hilderbrand y Lasek, 2014). Esta mayor motivación por el refuerzo también ha sido observada con anterioridad en ratas con una menor IPP en un programa de ratio progresivo con comida (*breakpoint*) (Freudenberg y cols., 2007).

Por otro lado, el mayor número de reinstauraciones con dosis *priming* en las hembras con una menor IPP de nuestro estudio, parece estar en consonancia con diferencias de sexo observadas en la reinstauración del CPL inducido con cocaína en otros estudios (Gulley, 2007; Bobzean y cols., 2010). En concreto, aunque la adquisición del CPL fue similar en machos y hembras, éstas presentaron una mayor preferencia en las reinstauraciones; las hembras alcanzaron valores mayores que los machos en el tiempo de permanencia en el compartimento asociado a la droga (*conditioning score*) en las reinstauraciones de la preferencia por *priming*, respecto a los valores obtenidos en la adquisición del CPL inducido por cocaína, con dosis de 15 y 25 mg/kg (Bobzean y cols., 2010). Los resultados del presente estudio identifican por primera vez qué hembras de la población general son las más vulnerables a realizar ese mayor

número de reinstauraciones, es decir, las hembras con una menor IPP mostrarían una mayor ansia o deseo por la droga, y por tanto, una mayor tendencia a la recaída.

Esta mayor persistencia de la respuesta condicionada de los animales con menor IPP, reflejada en la incapacidad de los machos para extinguir la respuesta condicionada en la prueba del CPL y en el mayor número de restauraciones con dosis *priming* de la droga de las hembras, podría ser debida a una menor plasticidad neuronal. Una menor respuesta en la IPP característica de las personas que padecen esquizofrenia (Swerdlow y cols., 2008; García-Sánchez y cols., 2011; Kohl y cols., 2013) se ha relacionado con una mayor persistencia en conductas poco adaptativas a pesar de las consecuencias negativas (Prentice y cols., 2008; Vogel y cols., 2013).

Los resultados del segundo estudio de nuestro trabajo nos revelan que no hay grandes diferencias en el perfil conductual de los animales según sea su mayor o menor IPP. En concreto, hemos encontrado que los ratones con una menor IPP tienen una latencia menor y un mayor número de visitas al centro del campo abierto que los ratones con una mayor IPP, lo que podría hacernos pensar que son menos ansiosos. Sin embargo, no hemos encontrado diferencias en el tiempo total en el centro, ni en otras medidas más específicas de ansiedad, como son las del laberinto elevado en cruz según el nivel de IPP de los animales. Otros estudios con ratas (Goktalay y cols., 2014) y con ratones (Peleg-Raibstein y cols., 2015) clasificados según muestren una mayor o menor IPP, tampoco observaron diferencias en el nivel de ansiedad en ninguna de las medidas del laberinto elevado en cruz. Una posible interpretación alternativa sería considerar que la mayor prontitud y número de visitas al centro de los ratones con una menor IPP podría ser un indicador de una mayor impulsividad, aunque otras pruebas serían necesarias para poder corroborar nuestra interpretación, ya que no existen hasta el momento estudios que evalúen la relación entre impulsividad e IPP.

Por otro lado, no hemos encontrado una relación entre el rasgo de búsqueda de la novedad y la IPP, pues no se han observado diferencias entre los ratones según su nivel de IPP en el test del *hole-board*. Estudios en humanos, tampoco han mostrado una asociación entre este rasgo de personalidad y la respuesta en la IPP (Katsuragi y cols., 2001; Swerdlow y cols., 2003b).

En las pruebas de aprendizaje y memoria, hay que destacar que los sujetos con una menor IPP presentan un menor recuerdo del estímulo aversivo en el condicionamiento de la evitación pasiva que los animales con una mayor IPP. Estas diferencias son más acentuadas a largo plazo, cuando el recuerdo es evaluado a la semana de la presentación del castigo. Esto indica que aquellos animales con una IPP menor recuerdan menos un estímulo aversivo que aquellos con una mayor respuesta en la IPP. Aunque ambos grupos de animales se condicionaron, es decir, incrementaron significativamente la latencia de cruce al compartimento oscuro después de asociarlo con el estímulo aversivo, sí es cierto que los de mayor IPP recuerdan mejor las consecuencias negativas de su conducta, lo que podría interpretarse como un mejor procesamiento de la información relevante y por tanto, una mejor adaptación al medio. Así, los sujetos con una menor IPP no solo persistirán más en su conducta de búsqueda de la cocaína, sino que además, tendrán un menor recuerdo a largo plazo de las consecuencias negativas de su consumo, por lo que tendrán muchas más probabilidades de desarrollar un trastorno por uso de sustancias (Rodríguez-Arias y Aguilar, 2012).

Por otro lado, los ratones machos con una mayor IPP presentan un mayor índice de discriminación del objeto novedoso que las hembras de mayor IPP y que los machos de menor IPP. Aunque no existen trabajos previos que relacionen la IPP con tareas de reconocimiento de objetos, sí que existen diversos estudios que demuestran un déficit en tareas de reconocimiento de objetos nuevos frente a familiares de tipo visual y espacial en sujetos diagnosticados

de esquizofrenia (Heckers y cols., 2000; Tek y cols., 2002; Richmond y cols., 2004; Rajagopal y cols., 2014), trastorno altamente ligado a una deficiente IPP (Swerdlow y cols., 1995, 2001, 2006; Braff y cols., 2001; Falkai y cols., 2015). Los resultados de un trabajo muy reciente con animales transgénicos PACAP (por sus siglas en inglés *adenylate cyclase-activating polypeptide* (PACAP)-deficient) que comparten características comportamentales del trastorno TDAH (Shibasaki y cols., 2015), consideramos que también apoyan las deficiencias de los machos de menor IPP en la discriminación del objeto novedoso encontradas en nuestro estudio. Los autores del trabajo utilizaron un fármaco no estimulante (atomoxetine, ATX por sus siglas en inglés) para elevar los niveles noradrenérgicos y dopaminérgicos extracelulares del Córtex Prefrontal, mediante el bloqueo del transportador de la noradrenalina (NET, por sus siglas en inglés) de los ratones transgénicos PACAP con el propósito de corregir su hiperactividad motora, pero encontraron que dicho fármaco mejoraba la memoria deficiente de los ratones mostrada en el test del reconocimiento del objeto novedoso, así como su respuesta en la IPP (Shibasaki y cols., 2015).

En cuanto a los resultados obtenidos en el laberinto Hebb-Williams muestran que pertenecer al grupo de mayor o menor IPP es independiente de realizar una mejor o peor ejecución en esta prueba, por tanto, la IPP no predice la ejecución de una prueba de aprendizaje espacial, como es el laberinto Hebb-Williams. Estos resultados nos indican que la capacidad que ha demostrado la IPP para determinar aquellos sujetos con una mayor sensibilidad a la droga en el CPL, no pueden ser explicados por diferencias en su capacidad en el aprendizaje espacial, necesaria para realizar la asociación entre el refuerzo y las claves ambientales. De hecho, los ratones con una menor IPP tampoco difieren de los ratones de mayor IPP en una tarea espacial como es el laberinto de Morris (Peleg-Raibstein y cols., 2015), dato que estaría en concordancia con nuestros resultados en la prueba del laberinto de Hebb Williams.

Lo que resulta evidente con los resultados obtenidos en nuestro trabajo en las pruebas de aprendizaje y memoria, es que los ratones con una menor IPP no presentan ninguna incapacidad cognitiva para ejecutar y adquirir el CPL que pueda explicar las diferencias de IPP encontradas en la sensibilidad a la cocaína. Es decir, procesos superiores como son el aprendizaje (adquisición), consolidación del aprendizaje y el recuerdo (memoria), necesarios para la asociación producida entre los estímulos ambientales y ciertos estados producidos por las drogas de abuso, no se ven influenciados por el endofenotipo de la IPP. Sino más bien las diferencias encontradas pueden ser explicadas por un perfil típico de una inhibición deficiente. Por tanto, podemos confirmar que la prueba de la IPP es una buena herramienta para detectar aquellos animales que muestran una preferencia más duradera al lugar asociado a la cocaína en el test del CPL.

Finalmente, la evaluación de la sintomatología asociada a patología psiquiátrica utilizando el laberinto elevado en cruz (modelo animal de ansiedad ante la novedad) y el test de suspensión de la cola (modelo animal de depresión), tampoco revelaron grandes diferencias entre los animales debidas a su respuesta en la IPP. Ya hemos comentado anteriormente que nuestros resultados del laberinto elevado en cruz no han mostrado diferencias debidas a la IPP, coincidiendo con otros estudios con roedores (Goktalay y cols., 2014; Peleg-Raibstein y cols., 2015). Y estudios en humanos que relacionen el nivel de ansiedad con la IPP, solo han encontrado diferencias en la respuesta de sobresalto y en su habituación según el nivel de ansiedad de los sujetos pero no con el nivel de IPP (Ludewing y cols., 2002; 2005; Kohl y cols., 2013).

En cuanto a la sintomatología asociada a la depresión, solo se han observado unos niveles mayores de desánimo conductual o anhedonia en las hembras de menor IPP en comparación a las de mayor IPP; lo cual indica una tendencia a la depresión expresada por un mayor tiempo de inmovilidad en el test de la suspensión de la cola.

Este resultado coincide con un trabajo anterior con ratones KO Atk1, los cuales exhiben una deficiente IPP, por lo que son considerados un modelo animal de Psicosis, donde las hembras en comparación con los machos mostraron un mayor tiempo de inmovilidad en la prueba del test de la suspensión de la cola (Chen y Lai, 2011). En general, los estudios en humanos no han mostrado deficiencias significativas en la IPP en pacientes diagnosticados de trastorno depresivo mayor (TDM), solo una tendencia a una menor IPP comparado con los controles (Ludewig y Ludewig, 2003; Perry y cols., 2004; Quednow y cols., 2006; Kohl y cols., 2013). Aunque la mayoría de estos sujetos han sido medicados con antidepresivos, se ha demostrado que estos medicamentos no influyen en la expresión normal de la IPP (Martinez y Geyer, 1997). Perry y Viglione (1991) sugirieron que el sutil trastorno de pensamiento que padecen estos pacientes con TDM puede ser la causa del déficit superficial que manifiestan en la IPP, el cual no es tan profundo como en los pacientes con síntomas psicóticos. En nuestro estudio, el mayor nivel de anhedonia de los animales con una menor IPP se observa exclusivamente en el sexo femenino. Por esta razón, consideramos que nuestro estudio revela un dato nuevo respecto a los trastornos asociados a una inhibición deficiente, donde es posible que una sintomatología depresiva y una baja IPP sea característica del perfil femenino y no del masculino. De hecho, los pacientes con esquizofrenia muestran diferencias de género en los síntomas manifestados, siendo los depresivos y del estado de ánimo más comunes en las mujeres diagnosticadas de esquizofrenia y en los hombres los síntomas negativos (Häfner y cols., 1998; Grigoriadis y Seeman, 2002; Salokangas y cols., 2003; Chen y Lai, 2011).

Al margen de las diferencias encontradas en los sujetos según su respuesta en la IPP, como es de esperar, hemos observado numerosas diferencias de sexo en las pruebas conductuales. Así, las diferencias en las conductas típicas de la especie analizadas en la interacción social han sido debidas exclusivamente al sexo. En general, las hembras se muestran más sociables, ya que dedican más

tiempo a la conducta de exploración social y los machos a conductas como la exploración a distancia, la amenaza, y el escarbar. Estas diferencias de sexo se han observado con anterioridad en otras cepas de ratones con un modelo de interacción social similar al utilizado en este trabajo (An y cols., 2011). En general, la literatura nos muestra a los ratones machos más territoriales y agresivos con otros machos, ya que cuando se agrupan, estos desarrollan una estructura social con un único macho dominante. En cambio, las hembras muestran menos o ninguna conducta agresiva hacia otras hembras, y no desarrollan una jerarquía social marcada mostrando un mayor cuidado/acercamiento parental y una menor competición reproductiva (Trivers, 1972), excepto cuando cohabitan con otro macho o durante la lactancia (Palanza y cols., 2001; Cox y Rissman, 2011; Clutton-Brock y Huchard, 2013). En consecuencia, podemos afirmar que las diferencias en las conductas de interacción social evaluadas en nuestro estudio son debidas al perfil genético-específico ligado al sexo, ya que las hembras en general se muestran más sociables que los machos debido a su diferente rol social y reproductivo. Sin embargo, hemos observado una mayor exploración general en las hembras que en los machos en el test del reconocimiento del objeto novedoso de nuestro estudio, coincidiendo con resultados de trabajos anteriores (Frick y Gresack, 2003; Vidal-Infer y cols., 2012a). Los ratones del sexo femenino mostraron una mayor exploración de los dos objetos (novedad y familiar) que los del sexo masculino, aunque encontraron también que los machos exploraban más el objeto novedoso que las hembras (Frick y Gresack, 2003), diferencia de género que en nuestro trabajo solo hemos observado en el número de aproximaciones a la novedad que realizan los ratones con una mayor IPP. Estas diferencias de sexo encontradas en la exploración parecen indicar una menor memoria de reconocimiento del objeto novedoso de las hembras, puesto que ellas muestran una mayor exploración de ambos objetos; sin embargo, no podemos descartar que pueda deberse a un menor interés por la novedad de las hembras. Estudios más específicos serían necesarios para esclarecer estas diferencias de género.

Los resultados en la prueba del campo abierto muestran que los machos recorren una mayor distancia en la caja y pasan más tiempo total en el centro de la misma que las hembras. Estas diferencias de sexo nos indican que los machos son más activos y en principio menos ansiosos. En nuestro laboratorio hemos obtenido resultados similares (datos no publicados), mostrándose también los machos más activos en la prueba del Campo abierto que las hembras, al contrario de lo que se ha descrito en la literatura con otras pruebas (Dalla y Shors, 2009; Navarro-Frances y Arenas, 2014). Por el contrario, la menor ansiedad encontrada en el sexo masculino de nuestro estudio, sí que está documentada en la literatura con determinadas cepas de ratones (An y cols., 2011), aunque como hemos comentado previamente, ésta medida del campo abierto, aparentemente de ansiedad, no se correlaciona con los resultados en otros modelos animales de ansiedad. De hecho, una misma cepa de ratones se ha definido como “ansiosa” en la prueba del laberinto elevado en cruz y como “no-ansiosa” en la prueba del campo abierto (Trullas y Skolnick, 1993; Rogers y cols., 1999). La disparidad de estos datos puede deberse a la diferente selección y análisis de parámetros conductuales definitorios en los estudios de los niveles de ansiedad que no siempre correlacionan entre ellos (Bouwknicht y Paylor, 2002; Carola y cols., 2002).

También encontramos diferencias de sexo en la ejecución del laberinto Hebb-Williams, y tal como se esperaba, teniendo en cuenta la literatura (Stanford y Brown, 2003; Galsworthy y cols., 2005), los machos obtuvieron mejores resultados que las hembras en todas las configuraciones de los laberintos. Los machos tardaban menos tiempo en ejecutar los laberintos, cometían menos errores y aprendían antes la realización de los mismos. Por otro lado, se esperaba que todos los animales en general, fueran más eficientes en los laberintos fáciles que en los laberintos difíciles. Sin embargo, en nuestro estudio hemos demostrado que la dificultad del laberinto depende del sexo del animal. Los resultados de las hembras en este estudio nos indican que

la clasificación propuesta por Stanford y Brown, (2003) no es adecuada para discriminar los laberintos fáciles de los difíciles en ellas. De hecho, estudios tanto con roedores (Rodríguez y cols., 2010), como con humanos (Kimura y Nicolovius, 2004; Sánchez- Sánchez y cols., 2011), afirman que ambos sexos presentan diferencias tanto en el rendimiento de las tareas espaciales, como en las estrategias a seguir en la ejecución de las mismas, debidas a la exposición hormonal al inicio de la vida.

La existencia de diferencias en la vía dopaminérgica del refuerzo es una explicación plausible de la menor sensibilidad a los efectos reforzantes de la cocaína, así como de la mayor persistencia en la preferencia condicionada inducida con esta droga, observada en los ratones con una menor IPP de nuestro estudio. Se ha comprobado que los animales con una menor IPP presentaron unos niveles de DA y de sus metabolitos (DOPAC y HVA) en el córtex prefrontal medial (CPFM) y núcleo accumbens (NAcc) más altos que los niveles de los animales con una mayor IPP (Peleg-Raibstein y cols., 2013). De hecho, estos mismos ratones con una menor IPP fueron menos sensibles a una primera dosis (2.5 mg/kg) de anfetamina, mientras que mostraron una mayor sensibilización con la segunda dosis (2.5 mg/kg) administrada; dato que sería comparable a los resultados obtenidos en nuestro estudio en los animales de menor IPP, ya que estos mostraron una menor respuesta a dosis bajas (1 y 6 mg/kg) de cocaína y una mayor persistencia en la búsqueda del lugar asociado a la droga con una dosis más alta (12.5 mg/kg).

Está ampliamente documentada la relación entre niveles altos de DA y una menor respuesta en la IPP. La administración de agonistas dopaminérgicos disminuyen la respuesta de la IPP tanto en roedores (Johansson y cols., 1995; Zhang y cols., 2000; Holmes y cols., 2001; Geyer y cols., 2002; Ralph-Williams y cols., 2002; 2003; Ralph y Caine, 2005; 2007) como en humanos (Hutchison y Swift, 1999; Swerdlow y cols., 2003a), y la administración de antagonistas

dopaminérgicos la aumentan principalmente (Swerdlow y Geyer, 1993b; Johansson y cols., 1995; Depoortere y cols., 1997; Zhang y cols., 2000; Vollenweider y cols., 2006; Holstein y cols. 2011). Además, los pacientes esquizofrénicos y con otros trastornos psiquiátricos que presentan una elevada actividad del sistema dopaminérgico se caracterizan por una deficiente IPP (Braff y cols., 2001; Swerdlow y cols., 2001; 2006; Falkai y cols., 2015). Niveles bajos en la respuesta de la IPP en sujetos sanos, también se ha demostrado que correlacionan con la tendencia a padecer psicosis y esquizofrenia, e indirectamente se sugiere que estos sujetos pueden tener un tono o actividad dopaminérgica basal más elevada (Swerdlow y cols. 1995; García-Sánchez y cols., 2011).

Teniendo en cuenta los resultados mencionados, cabría pensar que estos niveles de DA más elevados en los sujetos con una menor IPP pueden llevar a una compensación funcional, como por ejemplo una regulación a la baja de la densidad de los receptores o de la sensibilidad de los mismos. En estudios con animales se ha comprobado que la exposición repetida a los psicoestimulantes está asociada con un decremento significativo de la densidad de los receptores D2 estriatales (Everitt y cols., 2008; Nader y cols., 2008). Como se puede comprobar en diferentes estudios, la disponibilidad de los receptores D2 antes de la exposición a la cocaína predice la subsiguiente autoadministración de la droga en primates no humanos (Nader y cols., 2006), siendo la correlación negativa, es decir, a menor número de receptores D2 se espera un mayor consumo de cocaína (Haile y cols., 2012). Y por el contrario, se ha comprobado que el aumento de los receptores D2 reduce el consumo de cocaína en los ratones (Merritt y Bachtell, 2013).

En estudios con humanos, la relación entre receptores dopaminérgicos y los efectos de los psicoestimulantes resulta más compleja. Cuando se han evaluado los efectos subjetivos a psicoestimulantes como el metilfenidato (Ritalin), en una población

no adicta, se ha comprobado que los sujetos con bajos niveles de receptores D2 encontraban más placentera la droga que aquellos con unos niveles altos de dichos receptores, informando estos últimos de una experiencia displacentera tras el consumo del estimulante (Volkow y cols., 1999). Un hallazgo consistente en la literatura es que los sujetos con un trastorno por uso de sustancias, incluyendo los sujetos alcohólicos, muestran una baja disponibilidad de los receptores D2 estriatales (Volkow y cols., 2011; Trifilieff y Martinez, 2014), lo cual se asocia con una disminución del metabolismo de la DA en el córtex orbitofrontal y en el córtex cingulado anterior (COF/CCA) (Volkow y cols., 2011). Probablemente este menor metabolismo en el COF/CCA es secundario a una hipofunción de los receptores D2 postsinápticos estriatales (Belcher y cols., 2014). Esta correlación entre la disponibilidad de los receptores D2 estriatales y el metabolismo en el COF/CCA observada en adictos a los psicoestimulantes y al alcohol (Volkow y cols., 2009; Volkow y cols., 2011; Trifilieff y Martinez, 2014), resulta de gran importancia en la vulnerabilidad a desarrollar un trastorno por uso de sustancias, puesto que estas áreas son claves en la toma de decisiones, y por tanto su disfunción puede conducir a una elección impulsiva y a conductas compulsivas poco adaptativas (Belcher y cols., 2014).

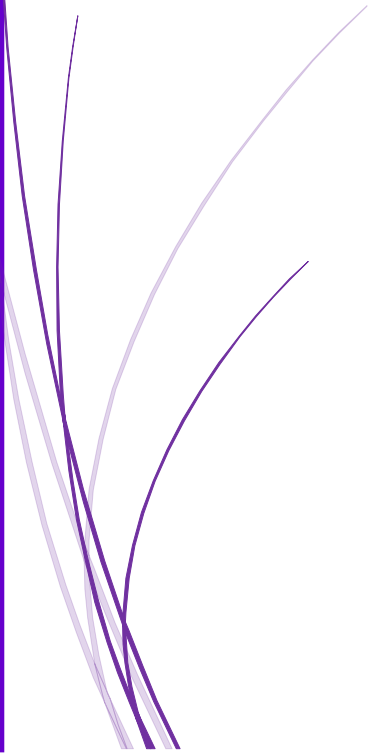
Así, en resumen, una menor IPP se ha relacionado con niveles altos de DA, los cuales podrían provocar o reflejar una regulación a la baja de los receptores D2; y se ha observado que los sujetos con un trastorno por uso de sustancias presentan una hipofunción de los receptores D2. Estos datos podrían explicar por qué los animales de nuestro estudio, con una menor IPP presentan una persistencia en la preferencia condicionada por la cocaína y por tanto, una conducta compulsiva de búsqueda de la droga. En concreto, hemos encontrado que los sujetos con una menor IPP son menos sensibles a los efectos reforzantes de la cocaína, lo que puede resultar en un mayor riesgo de consumo futuro en un corto periodo de tiempo, hasta que el animal obtenga los efectos interoceptivos que experimentó con dosis altas

previas (Manzanedo y cols., 2012). Además, hemos demostrado una mayor persistencia en la conducta de búsqueda de la droga, cuando resulta gratificante, en los animales con menor IPP, al no poder extinguir la asociación de las claves ambientales con el refuerzo de la droga y también, una menor valoración de los efectos negativos de un castigo a largo plazo, en comparación con los animales que presentan una mayor IPP, lo cual puede relacionarse con un incremento en la motivación a consumir la droga a lo largo del tiempo (Dackis y O'Brien, 2001). Sin embargo, estudios futuros deberían evaluar los niveles de los receptores dopaminérgicos en el estriado y en el córtex de los ratones según su nivel de respuesta en la IPP para poder concretar su perfil bioquímico. De esta manera, podremos comprender y explicar la mayor vulnerabilidad de los ratones con una menor IPP en desarrollar una búsqueda compulsiva de la cocaína demostrada en el presente trabajo.

En conclusión, los resultados de este trabajo muestran que los sujetos con una menor IPP presentan una menor sensibilidad a la cocaína (lo que les llevaría a consumir más cantidad para alcanzar sus efectos reforzantes), una mayor persistencia en la conducta de búsqueda de la droga cuando resulta gratificante (al no poder extinguir la asociación de las claves ambientales con el refuerzo de la droga) y una menor valoración de los efectos negativos de un castigo a largo plazo que los animales con una mayor IPP. Todo lo cual, nos lleva a concluir que el exhibir una mayor o menor IPP, el endofenotipo evaluado en este trabajo, representa un marcador de la vulnerabilidad de un sujeto a mostrar una conducta compulsiva de búsqueda de la cocaína, y por tanto a desarrollar un trastorno por uso de sustancia.



CONCLUSIONES



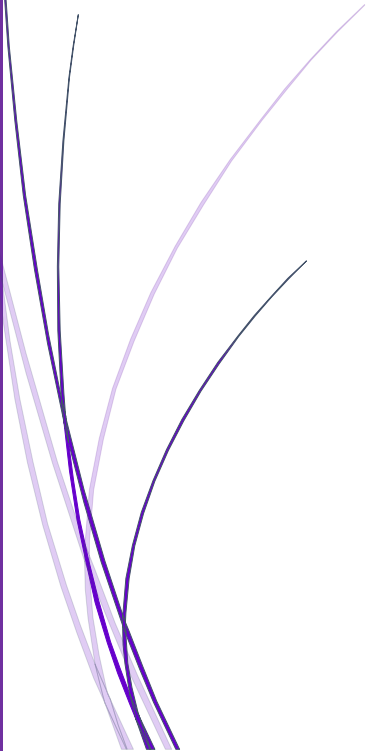
Nuestro trabajo demuestra que la prueba de Inhibición Pre-Pulso (IPP) predice la sensibilidad de los ratones a las propiedades reforzantes asociativas de la cocaína en el CPL en todas las dosis evaluadas tanto en machos como en hembras. Los animales con una menor IPP necesitan dosis más altas de cocaína para inducir una preferencia por el lugar asociado a la droga que los sujetos con una mayor IPP. Y mostrada la preferencia, esta es más duradera en los animales con una menor IPP, aunque de manera diferente en cada sexo. Los machos no consiguieron extinguir la preferencia y las hembras reinstauraron la conducta de búsqueda con un mayor número de dosis *priming*.

Los animales clasificados según su mayor o menor IPP no muestran diferencias en la mayoría de medidas evaluadas en las pruebas de conducta. Solo los ratones con una menor IPP tienen una latencia menor y un mayor número de visitas al centro del campo abierto que los ratones con una mayor IPP, aunque no se diferencian en el tiempo total en el centro. En las pruebas de aprendizaje y memoria, los sujetos con una menor IPP presentan un menor recuerdo del estímulo aversivo (castigo), principalmente a largo plazo (una semana), que los animales con una mayor IPP. Y no se han observado diferencias en el modelo animal de ansiedad entre los ratones con mayor o menor IPP, pero sí unos niveles mayores de desánimo conductual o anhedonia en las hembras de menor IPP en comparación a las de mayor IPP en un modelo animal de depresión.

Los ratones con una menor IPP presentan una menor sensibilidad a la cocaína, una mayor persistencia en la búsqueda de la droga y una menor valoración de los efectos negativos de un castigo a largo plazo que los animales con una mayor IPP. Por tanto, consideramos que el endofenotipo de la IPP constituye un marcador de la vulnerabilidad de un sujeto a desarrollar un trastorno por uso de cocaína.



BIBLIOGRAFÍA



- Abduljawad, K. A. J., Langley, R. W., Bradshaw, C. M., & Szabadi, E. (1998). Effects of bromocriptine and haloperidol on prepulse inhibition of the acoustic startle response in man. *Journal of Psychopharmacology*, 12(3), 239-245.
- Adams, J. U., Efferen, T. R., Duncan, E. J., & Rotrosen, J. (2001). Prepulse inhibition of the acoustic startle response in cocaine-withdrawn rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 68(4), 753-759.
- Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, J. (2009). Neurobiological mechanisms of the reinstatement of drug-conditioned place preference. *Brain research reviews*, 59(2), 253-277. doi:10.1016/j.brainresrev.2008.08.002
- Ahmari, S. E., Risbrough, V. B., Geyer, M. A., & Simpson, H. B. (2012). Impaired sensorimotor gating in unmedicated adults with obsessive-compulsive disorder. *Neuropsychopharmacology*, 37(5), 1216-1223
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5®)*. American Psychiatric Pub.
- An, X. L., Zou, J. X., Wu, R. Y., Yang, Y., Tai, F. D., Zeng, S. Y., ... & Broders, H. (2011). Strain and sex differences in anxiety-like and social behaviors in C57BL/6J and BALB/cJ mice. *Experimental animals*, 60(2), 111-123. <http://doi.org/10.1538/expanim.60.111>
- Andreasen, N. C. (1999). A unitary model of schizophrenia: Bleuler's fragmented phrene as schizencephaly. *Archives of general psychiatry*, 56(9), 781-787.

Bibliografía

- Anokhin, A. P., Heath, A. C., Myers, E., Ralano, A., & Wood, S. (2003). Genetic influences on prepulse inhibition of startle reflex in humans. *Neuroscience letters*, 353(1), 45-48. doi:10.1016/j.neulet.2003.09.014
- Antunes, M., & Biala, G. (2012). The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cognitive processing*, 13(2), 93-110. doi: 10.1007/s10339-011-0430-z
- Araos, P., Vergara-Moragues, E., Pedraz, M., Pavón, F. J., Campos, C. R., Calado, M., ... & Rodríguez, D. F. F. (2014). Psychopathological comorbidity in cocaine users in outpatient treatment. *Adicciones*, 26(1), 15.
- Arenas, M. C., Daza-Losada, M., Vidal-Infer, A., Aguilar, M. A., Miñarro, J., & Rodríguez-Arias, M. (2014). Capacity of novelty-induced locomotor activity and the hole-board test to predict sensitivity to the conditioned rewarding effects of cocaine. *Physiology & behavior*, 133, 152-160. doi:10.1016/j.physbeh.2014.05.028
- Arias, F., Szerman, N., Vega, P., Mesias, B., Basurte, I., Morant, C., & Babin, F. (2013). Abuso o dependencia a la cocaína y otros trastornos psiquiátricos. Estudio Madrid sobre la prevalencia de la patología dual. *Revista de Psiquiatría y Salud Mental*, 6(3), 121-128.
- Ashby, F.G., Isen, A.M., Turken, U., (1999). A neuropsychological theory of positive affect and its influence on cognition. *Psychological review*. 106 (3), 529–550.

- Balcells-Oliveró, M. (2001). Complicaciones orgánicas de la cocaína. *Monografía Cocaína*, 167.
- Bardo, M. T., & Bevins, R. A. (2000). Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology*, 153(1), 31-43.
- Beach, H. D. (1957). Morphine addiction in rats. *Canadian Journal of Psychology/Revue canadienne de psychologie*, 11(2), 104.
- Bechara, A. (2005). Decision making, impulse control and loss of willpower to resist drugs: a neurocognitive perspective. *Nature neuroscience*, 8(11), 1458-1463. doi:10.1038/nn1584
- Bechara, A., Damasio, A. R., Damasio, H., & Anderson, S. W. (1994). Insensitivity to future consequences following damage to human prefrontal cortex. *Cognition*, 50(1), 7-15.
- Belcher, A. M., Volkow, N. D., Moeller, F. G., & Ferré, S. (2014). Personality traits and vulnerability or resilience to substance use disorders. *Trends in cognitive sciences*, 18(4), 211-217. doi:10.1016/j.tics.2014.01.010
- Belin, D., & Deroche-Gamonet, V. (2012). Responses to novelty and vulnerability to cocaine addiction: contribution of a multi-symptomatic animal model. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(11), a011940. doi: 10.1101/cshperspect.a011940
- Bobzean, S. A. M., Dennis, T. S., Addison, B. D., & Perrotti, L. I. (2010). Influence of sex on reinstatement of cocaine-conditioned place preference. *Brain research bulletin*, 83(6), 331-336. doi:10.1016/j.brainresbull.2010.09.003

Bibliografía

- Bouwknicht, J. A., & Paylor, R. (2002). Behavioral and physiological mouse assays for anxiety: a survey in nine mouse strains. *Behavioural brain research*, 136(2), 489-501. doi:10.1016/S0166-4328(02)00200-0
- Brabant, C., Quertemont, E., & Tirelli, E. (2005). Influence of the dose and the number of drug-context pairings on the magnitude and the long-lasting retention of cocaine-induced conditioned place preference in C57BL/6J mice. *Psychopharmacology*, 180(1), 33-40. doi:10.1007/s00213-004-2138-6
- Braff D., Greenwood T.A., Swerdlow N.R., Light G.A., Schork N.J. (2008). Avances en la endotipificación de la esquizofrenia. *World Psychiatry (Ed Esp)* 6,11-18.
- Braff, D.L. (1985) Attention, habituation, and information processing in psychiatric disorders. *Psychiatry III*. Lippincott, Philadelphia, Chapter 65, pp 1–12
- Braff, D. L. (1993) Information processing and attention dysfunctions in schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 19(2), 233–259.
- Braff, D. L. (1999). 21 Psychophysiological and information-processing approaches to schizophrenia. *Neurobiology of mental illness*, 258.
- Braff, D. L., & Geyer, M. A. (1990). Sensorimotor gating and schizophrenia: human and animal model studies. *Archives of general psychiatry*, 47(2), 181-188.

- Braff, D. L., Geyer, M. A., & Swerdlow, N. R. (2001). Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. *Psychopharmacology*, *156*(2-3), 234-258. doi: 10.1007/s002130100810
- Braff, D. L., Saccuzzo, D. P., & Geyer, M. A. (1991). Information processing dysfunctions in schizophrenia: studies of visual backward masking, sensorimotor gating, and habituation. In: Zubin J, Steinhauer S, Gruzelier JH (eds). *Handbook of schizophrenia, vol4, neuropsychology, psychophysiology and information processing*. Elsevier, Amsterdam, pp 303–334.
- Brain P.F. (1981). Diverse action of hormones on "aggression" in animals and man. En: 1.Valzelli and 1. Morgese (Eds.). *Aggression and violence: A psychobiological and clinical approach*. Edizioni Saint Vineent. p. 99-149.
- Buckland, G., Buckland, J., Jamieson, C., & Ison, J. R. (1969). Inhibition of startle response to acoustic stimulation produced by visual prestimulation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *67*(4), 493.
- Burns, L., & Teesson, M. (2002). Alcohol use disorders comorbid with anxiety, depression and drug use disorders: Findings from the Australian National Survey of Mental Health and Well Being. *Drug and alcohol dependence*, *68*(3), 299-307.
- Byrnes, J. J., & Hammer, R. P. (2000). The disruptive effect of cocaine on prepulse inhibition is prevented by repeated administration in rats. *Neuropsychopharmacology*, *22*(5), 551-554.

Bibliografia

- Cadenhead, K. S., Swerdlow, N. R., Shafer, K. M., Diaz, M., & Braff, D. L. (1999). Modulation of the startle response and startle laterality in relatives of schizophrenic patients and in subjects with schizotypal personality disorder: evidence of inhibitory deficits. *American Journal of Psychiatry*, *157*(10), 1660-1668.
- Cadet, J. L., Bisagno, V., & Milroy, C. M. (2014). Neuropathology of substance use disorders. *Acta neuropathologica*, *127*(1), 91-107.
- Cardoso, F. E., & Jankovic, J. (1993). Cocaine-related movement disorders. *Movement disorders*, *8*(2), 175-178.
- Carey, A. N., Borozny, K., Aldrich, J. V., & McLaughlin, J. P. (2007). Reinstatement of cocaine place-conditioning prevented by the peptide kappa-opioid receptor antagonist arodyn. *European journal of pharmacology*, *569*(1), 84-89. doi:10.1016/j.ejphar.2007.05.007
- Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., & Renzi, P. (2002). Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural brain research*, *134*(1), 49-57. doi:10.1016/S0166-4328(01)00452-1
- Carroll, C. A., Vohs, J. L., O'Donnell, B. F., Shekhar, A., & Hetrick, W. P. (2007). Sensorimotor gating in manic and mixed episode bipolar disorder. *Bipolar disorders*, *9*(3), 221-229
- Catterall, W. A. & Mackie, K (2006). *Local anesthetics. Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*, (11^o ed.) New York, NY: McGraw Hill.

- Chan, Y. F., Dennis, M. L., & Funk, R. R. (2008). Prevalence and comorbidity of major internalizing and externalizing problems among adolescents and adults presenting to substance abuse treatment. *Journal of substance abuse treatment*, 34(1), 14-24. doi:10.1016/j.jsat.2006.12.031
- Chausmer, A. L., Elmer, G. I., Rubinstein, M., Low, M. J., Grandy, D. K., & Katz, J. L. (2002). Cocaine-induced locomotor activity and cocaine discrimination in dopamine D2 receptor mutant mice. *Psychopharmacology*, 163(1), 54-61.
- Chen, K. W., Banducci, A. N., Guller, L., Macatee, R. J., Lavelle, A., Daughters, S. B., & Lejuez, C. W. (2011). An examination of psychiatric comorbidities as a function of gender and substance type within an inpatient substance use treatment program. *Drug and alcohol dependence*, 118(2), 92-99.
- Chen, L., & Xu, M. (2010). Dopamine D1 and D3 receptors are differentially involved in cue-elicited cocaine seeking. *Journal of neurochemistry*, 114(2), 530-541.
- Chen, Y. W., & Lai, W. S. (2011). Behavioral phenotyping of v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1-deficient mice reveals a sex-specific prepulse inhibition deficit in females that can be partially alleviated by glycogen synthase kinase-3 inhibitors but not by antipsychotics. *Neuroscience*, 174, 178-189. doi:10.1016/j.neuroscience.2010.09.056
- Clutton-Brock, T. H., & Huchard, E. (2013). Social competition and selection in males and females. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1631), 20130074. doi: 10.1098/rstb.2013.0074

Bibliografia

- Compton, W. M., Thomas, Y. F., Stinson, F. S., & Grant, B. F. (2007). Prevalence, correlates, disability, and comorbidity of DSM-IV drug abuse and dependence in the United States: results from the national epidemiologic survey on alcohol and related conditions. *Archives of general psychiatry*, 64(5), 566-576. doi:10.1001/archpsyc.64.5.566.
- Cox, K. H., & Rissman, E. F. (2011). Sex differences in juvenile mouse social behavior are influenced by sex chromosomes and social context. *Genes, Brain and Behavior*, 10(4), 465-472. doi: 10.1111/j.1601-183X.2011.00688.x
- Cryan, J. F., Mombereau, C., & Vassout, A. (2005). The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29(4), 571-625. doi:10.1016/j.neubiorev.2005.03.009
- Cunha, P. J., Bechara, A., de Andrade, A. G., & Nicastrri, S. (2011). Decision-Making Deficits Linked to Real-life Social Dysfunction in Crack Cocaine-Dependent Individuals. *The American Journal on Addictions*, 20(1), 78-86. doi: 10.1111/j.1521-0391.2010.00097.x
- Cunningham, C. L., Dickinson, S. D., Grahame, N. J., Okorn, D. M., & McMullin, C. S. (1999). Genetic differences in cocaine-induced conditioned place preference in mice depend on conditioning trial duration. *Psychopharmacology*, 146(1), 73-80. doi: 10.1007/s002130051090

- Curtis, J. T., & Wang, Z. (2007). Amphetamine effects in microtine rodents: a comparative study using monogamous and promiscuous vole species. *Neuroscience*, 148(4), 857-866. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.07.011
- Curzon, P., & Decker, M. W. (1998). Effects of phencyclidine (PCP) and (+) MK-801 on sensorimotor gating in CD-1 mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 22(1), 129-146.
- Dackis, C. A., & O'Brien, C. P. (2001). Cocaine dependence: a disease of the brain's reward centers. *Journal of substance abuse treatment*, 21(3), 111-117. doi:10.1016/S0740-5472(01)00192-1
- Dalla, C., & Shors, T. J. (2009). Sex differences in learning processes of classical and operant conditioning. *Physiology & behavior*, 97(2), 229-238. doi:10.1016/j.physbeh.2009.02.035
- Davis, M., Gendelman, D. S., Tischler, M. D., & Gendelman, P. M. (1982). A primary acoustic startle circuit: lesion and stimulation studies. *The journal of neuroscience*, 2(6), 791-805. .
- Dawson, M. E., Hazlett, E. A., Fillion, D. L., Nuechterlein, K. H., & Schell, A. M. (1993). Attention and schizophrenia: impaired modulation of the startle reflex. *Journal of abnormal psychology*, 102(4), 633.
- Daza-Losada, M., Do Couto, B. R., Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, J. (2007). Rewarding effects and reinstatement of MDMA-induced CPP in adolescent mice. *Neuropsychopharmacology*, 32(8), 1750-1759. doi:10.1038/sj.npp.1301309

Bibliografía

- De Koning, M. B., Bloemen, O. J., Van Duin, E. D., Booij, J., Abel, K. M., De Haan, L., & Van Amelsvoort, T. A. (2014). Pre-pulse inhibition and striatal dopamine in subjects at an ultra-high risk for psychosis. *Journal of Psychopharmacology*, 28(6), 553-560. doi:10.1177/0269881113519507
- De la Casa, L. G., Mena, A., & Puentes, A. (2014). Startle response and prepulse inhibition modulation by positive- and negative-induced affect. *International Journal of Psychophysiology*, 91(2), 73-79. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2013.10.017.
- de Oca, B. M., Villa, M., Cervantes, M., & Welbourne, T. (2012). Emotional modulation of the attentional blink by pleasant and unpleasant pictures. *The Journal of general psychology*, 139(4), 289-314. doi: 10.1080/00221309.2012.708681
- De Vries, T. J., Schoffelmeer, A. N., Binnekade, R., Mulder, A. H., & Vanderschuren, L. J. (1998). Drug-induced reinstatement of heroin-and cocaine-seeking behaviour following long-term extinction is associated with expression of behavioural sensitization. *European Journal of Neuroscience*, 10(11), 3565-3571. doi: 10.1046/j.1460-9568.1998.00368.x
- Depoortere, R., Perrault, G., & Sanger, D. J. (1997). Some, but not all, antipsychotic drugs potentiate a low level of prepulse inhibition shown by rats of the Wistar strain. *Behavioural pharmacology*, 8(4), 364-372.

- Deroche-Gamonet, V., & Piazza, P. V. (2013). Psychobiology of cocaine addiction: Contribution of a multi-symptomatic animal model of loss of control. *Neuropharmacology*, 76, 437-449. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.07.014
- Diana, M. (2011). The dopamine hypothesis of drug addiction and its potential therapeutic value. *Frontiers in psychiatry*, 2.
- Doherty, J. M., Masten, V. L., Powell, S. B., Ralph, R. J., Klamer, D., Low, M. J., & Geyer, M. A. (2008). Contributions of dopamine D1, D2, and D3 receptor subtypes to the disruptive effects of cocaine on prepulse inhibition in mice. *Neuropsychopharmacology*, 33(11), 2648-2656. doi:10.1038/sj.npp.1301657
- Dolan, S. L., Bechara, A., & Nathan, P. E. (2008). Executive dysfunction as a risk marker for substance abuse: the role of impulsive personality traits. *Behavioral sciences & the law*, 26(6), 799-822. doi: 10.1002/bsl.845
- Dulawa, S. C., & Geyer, M. A. (1996). Psychopharmacology of prepulse inhibition in mice. *The Chinese journal of physiology*, 39(3), 139-146.
- EMCDDA-European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2014). *Informe europeo sobre drogas: Tendencias y novedades. Luxemburgo: Oficina de Publicaciones de la Unión Europea*. Disponible:<http://www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2014>

Bibliografía

- EMCDDA-European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2015). *Informe europeo sobre drogas: Tendencias y novedades. Luxemburgo: Oficina de Publicaciones de la Unión Europea.* Disponible <http://www.emcdda.europa.eu/edr2015>
- Epstein, D. H., Preston, K. L., Stewart, J., & Shaham, Y. (2006). Toward a model of drug relapse: an assessment of the validity of the reinstatement procedure. *Psychopharmacology*, 189(1), 1-16. doi:10.1007/s00213-006-0529-6
- Ersche, K. D., Jones, P. S., Williams, G. B., Smith, D. G., Bullmore, E. T., & Robbins, T. W. (2013). Distinctive personality traits and neural correlates associated with stimulant drug use versus familial risk of stimulant dependence. *Biological psychiatry*, 74(2), 137-144. doi:10.1016/j.biopsych.2012.11.016
- Everitt, B. J., Belin, D., Economidou, D., Pelloux, Y., Dalley, J. W., & Robbins, T. W. (2008). Neural mechanisms underlying the vulnerability to develop compulsive drug-seeking habits and addiction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 363(1507), 3125-3135. doi: 10.1098/rstb.2008.0089
- Falkai, P., Rossner, M. J., Schulze, T. G., Hasan, A., Brzózka, M. M., Malchow, B., & Schmitt, A. (2015). Kraepelin revisited: schizophrenia from degeneration to failed regeneration. *Molecular psychiatry*, 20(6), 671-676. doi:10.1038/mp.2015.35;
- Fendt, M., Koch, M., & Schnitzler, H. U. (1994). Sensorimotor gating deficit after lesions of the superior colliculus. *Neuroreport*, 5(14), 1725-1728.

- Fendt, M., Li, L., & Yeomans, J. S. (2001). Brain stem circuits mediating prepulse inhibition of the startle reflex. *Psychopharmacology*, 156(2-3), 216-224. doi:10.1007/s002130100794
- Franco, J. C., Quintela, A. G., & Sixto, M. A. (2004). Complicaciones médicas del uso de cocaína. *Jano*, 66(1.515), 1380.
- Freudenberg, F., Dieckmann, M., Winter, S., Koch, M., & Schwabe, K. (2007). Selective breeding for deficient sensorimotor gating is accompanied by increased perseveration in rats. *Neuroscience*, 148(3), 612-622.
- Frick, K. M., & Gresack, J. E. (2003). Sex differences in the behavioral response to spatial and object novelty in adult C57BL/6 mice. *Behavioral neuroscience*, 117(6), 1283. doi: 10.1037/0735-7044.117.6.1283
- Galsworthy, M. J., Paya-Cano, J. L., Liu, L., Monleón, S., Gregoryan, G., Fernandes, C., ... & Plomin, R. (2005). Assessing reliability, heritability and general cognitive ability in a battery of cognitive tasks for laboratory mice. *Behavior genetics*, 35(5), 675-692. doi:10.1007/s10519-005-3423-9
- García-Sánchez, F., Martínez-Gras, I., Rodríguez-Jiménez, R., & Rubio, G. (2011). Inhibición prepulso del reflejo de la respuesta de sobresalto en los trastornos neuropsiquiátricos. *Revista de Neurología*, 53(7), 422-432.
- Geyer, M. A., Krebs-Thomson, K., Braff, D. L., & Swerdlow, N. R. (2001). Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: a decade in review. *Psychopharmacology*, 156(2-3), 117-154.

Bibliografía

- Geyer, M. A., McIlwain, K. L., & Paylor, R. (2002). Mouse genetic models for prepulse inhibition: an early review. *Molecular psychiatry*, 7, 1039–1053.
- Goktalay, G., Kayir, H., Ulusoy, G. K., & Uzbay, T. (2014). Social interaction of rats is related with baseline prepulse inhibition level. *Neuroscience letters*, 582, 125-129. doi: 10.1016/j.neulet.2014.09.010.
- Goldstein, R. A., DesLauriers, C., & Burda, A. M. (2009). Cocaine: history, social implications, and toxicity—a review. *Disease-a-Month*, 55(1), 6-38.
- Goldstein, R. Z., Leskovjan, A. C., Hoff, A. L., Hitzemann, R., Bashan, F., Khalsa, S. S., ... & Volkow, N. D. (2004). Severity of neuropsychological impairment in cocaine and alcohol addiction: association with metabolism in the prefrontal cortex. *Neuropsychologia*, 42(11), 1447-1458.
- Gorodetzky, H., Sahakian, B. J., Robbins, T. W., & Ersche, K. D. (2011). Differences in self-reported decision-making styles in stimulant-dependent and opiate-dependent individuals. *Psychiatry research*, 186(2), 437-440. doi:10.1016/j.psychres.2010.07.024
- Graham, F. K. (1975). The more or less startling effects of weak prestimulation. *Psychophysiology*, 12(3), 238-248.
- Graham, D.L., Hoppenot, R., Hendryx, A., & Self, D.W., (2007). Differential ability of D1 and D2 dopamine receptor agonists to induce and modulate expression and reinstatement of cocaine place preference in rats. *Psychopharmacology*, 191, 719–730.

- Grant, B. F., Stinson, F. S., Dawson, D. A., Chou, S. P., Dufour, M. C., Compton, W.... Kaplan, K. (2004a). Prevalence and co-occurrence of substance use disorders and independent mood and anxiety disorders: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Archives of General Psychiatry*, 61,807-16. doi:10.1001/archpsyc.61.8.807.
- Grant, B. F., Stinson, F. S., Dawson, D. A., Chou, S. P., Ruan, W. J., & Pickering, R. P. (2004b). Co-occurrence of 12-Month Alcohol and Drug Use Disorders and Personality Disorders in the United States: Results From the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Archives of general psychiatry*, 61(4), 361-368.
- Grigoriadis, S., & Seeman, M. V. (2002). The role of estrogen in schizophrenia: implications for schizophrenia practice guidelines for women. *Canadian journal of psychiatry*, 47(5), 437-442.
- Gulley, J. M. (2007). Individual differences in novelty-and cocaine-induced locomotor activity as predictors of food-reinforced operant behavior in two outbred rat strains. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 86(4), 749-757. doi:10.1016/j.pbb.2007.03.002
- Gunnarsdóttir, E. D., Pingitore, R. A., Spring, B. J., Konopka, L. M., Crayton, J. W., Milo, T., & Shirazi, P. (2000). Individual differences among cocaine users. *Addictive behaviors*, 25(5), 641-652. doi:10.1016/S0306-4603(99)00043-X

Bibliografía

- Häfner, H., an der Heiden, W., Behrens, S., Gattaz, W. F., Hambrecht, M., Löffler, W., ... & Stein, A. (1998). Causes and consequences of the gender difference in age at onset of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 24(1), 99-113.
- Haile, C. N., Mahoney, J. J., Newton, T. F., & De La Garza, R. (2012). Pharmacotherapeutics directed at deficiencies associated with cocaine dependence: focus on dopamine, norepinephrine and glutamate. *Pharmacology & therapeutics*, 134(2), 260-277. doi:10.1016/j.pharmthera.2012.01.010
- Haro, G., Bobes, J., Casas, M., Didia, J., & Rubio, G. (2010). Tratado sobre Patología Dual. *Reintegrando la Salud Mental. MRA Creación y Realización editorial. Barcelona.*
- Hasin, D. S., Stinson, F. S., Ogburn, E., & Grant, B. F. (2007). Prevalence, correlates, disability, and comorbidity of DSM-IV alcohol abuse and dependence in the United States: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Archives of general psychiatry*, 64(7), 830-842.
- Heckers, S., Curran, T., Goff, D., Rauch, S. L., Fischman, A. J., Alpert, N. M., & Schacter, D. L. (2000). Abnormalities in the thalamus and prefrontal cortex during episodic object recognition in schizophrenia. *Biological psychiatry*, 48(7), 651-657. doi:10.1016/S0006-3223(00)00919-7
- Heekeren, K., Meincke, U., Geyer, M. A., & Gouzoulis-Mayfrank, E. (2004). Attentional modulation of prepulse inhibition: a new startle paradigm. *Neuropsychobiology*, 49(2), 88-93.

- Herrero, M. J., Domingo-Salvany, A., Brugal, M. T., Torrens, M., & Itinere Investigators. (2011). Incidence of psychopathology in a cohort of young heroin and/or cocaine users. *Journal of substance abuse treatment*, 41(1), 55-63. doi:10.1016/j.jsat.2011.01.013
- Herrero, M. J., Domingo-Salvany, A., Torrens, M., & Brugal, M. T. (2007). Psychiatric comorbidity in young cocaine users: induced versus independent disorders. *Addiction*, 103(2), 284-293. doi: 10.1111/j.1360-0443.2007.02076.x.
- Herrero, M. J., Domingo-Salvany, A., Torrens, M., Brugal, M. T., Gutierrez, F., & The ITINERE investigators. (2008). Personality profile in young current regular users of cocaine. *Substance use & misuse*, 43(10), 1378-1394. doi:10.1080/10826080801922652.
- Hilderbrand, E. R., & Lasek, A. W. (2014). Sex differences in cocaine conditioned place preference in C57BL/6J mice. *NeuroReport*, 25(2), 105. doi: 10.1097/WNR.0000000000000053
- Hoffman, R.S. (2006) *Cocaine. Goldfrank's Toxicologic Emergencies*, (8^a ed.) New York, NY: McGraw Hill, p. 1133-46.
- Hollander, J.E. & Hoffman, R.S. (1998). *Cocaine. Goldfrank's toxicologic emergencies*, (6^a ed.) Stanford: Appleton & Lange, p. 1071-89.
- Holmes, A., Hollon, T. R., Gleason, T. C., Liu, Z., Dreiling, J., Sibley, D. R., & Crawley, J. N. (2001). Behavioral characterization of dopamine D₅ receptor null mutant mice. *Behavioral neuroscience*, 115(5), 1129.

Bibliografia

- Holstein, D. H., Csomor, P. A., Geyer, M. A., Huber, T., Brugger, N., Studerus, E., & Vollenweider, F. X. (2011). The effects of sertindole on sensory gating, sensorimotor gating, and cognition in healthy volunteers. *Journal of Psychopharmacology*, 25(12), 1600-1613. doi: 10.1177/0269881111415734
- Hutchison, K. E., & Swift, R. (1999). Effect of d-amphetamine on prepulse inhibition of the startle reflex in humans. *Psychopharmacology*, 143(4), 394-400.
- Itzhak, Y., & Martin, J. L. (2002). Cocaine-induced conditioned place preference in mice: induction, extinction and reinstatement by related psychostimulants. *Neuropsychopharmacology*, 26, 130-134. doi: 10.1038/S0893-133X(01)00303-7
- Johansson, C., Jackson, D. M., Zhang, J., & Svensson, L. (1995). Prepulse inhibition of acoustic startle, a measure of sensorimotor gating: effects of antipsychotics and other agents in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 52(4), 649-654.
- Katsuragi, S., Kiyota, A., Tsutsumi, T., Isogawa, K., Nagayama, H., Arinami, T., & Akiyoshi, J. (2001). Lack of association between a polymorphism in the promoter region of the dopamine D2 receptor and personality traits. *Psychiatry research*, 105(1), 123-127. doi:10.1016/S0165-1781(01)00331-6
- Kelley, J. B., Anderson, K. L., & Itzhak, Y. (2007). Long-term memory of cocaine-associated context: disruption and reinstatement. *Neuroreport*, 18(8), 777-780.

- Kessler, R. C., Chiu, W. T., Demler, O., & Walters, E. E. (2005). Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Archives of general psychiatry*, 62(6), 617-627. doi:10.1001/archpsyc.62.6.617.
- Kimble, D. P. (1963). The effects of bilateral hippocampal lesions in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 56(2), 273. doi: <http://dx.doi.org/10.1037/h0048903>
- Kimura, D., & Nicolovius, M. M. (2004). *Sexo y capacidades mentales*. Ariel.
- Knuepfer, M. M. (2003). Cardiovascular disorders associated with cocaine use: myths and truths. *Pharmacology & therapeutics*, 97(3), 181-222.
- Koch, M., & Schnitzler, H. U. (1997). The acoustic startle response in rats—circuits mediating evocation, inhibition and potentiation. *Behavioural brain research*, 89(1), 35-49.
- Kohl, S., Heekeren, K., Klosterkötter, J., & Kuhn, J. (2013). Prepulse inhibition in psychiatric disorders—apart from schizophrenia. *Journal of psychiatric research*, 47(4), 445-452. doi:10.1016/j.jpsychires.2012.11.018
- Kreibich, A. S., & Blendy, J. A. (2004). cAMP response element-binding protein is required for stress but not cocaine-induced reinstatement. *The Journal of neuroscience*, 24(30), 6686-6692. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1706-04.2004

Bibliografia

- Kumari, V., Mulligan, O. F., Cotter, P. A., Poon, L., Toone, B. K., Checkley, S. A., & Gray, J. A. (1998). Effects of single oral administrations of haloperidol and d-amphetamine on prepulse inhibition of the acoustic startle reflex in healthy male volunteers. *Behavioural pharmacology*, 9(7), 567-576.
- Lason, W. (2001). Neurochemical and pharmacological aspects of cocaine-induced seizures. *Polish journal of pharmacology*, 53(1), 57-60.
- Leitner, D. S., & Cohen, M. E. (1985). Role of the inferior colliculus in the inhibition of acoustic startle in the rat. *Physiology & behavior*, 34(1), 65-70.
- Leumann L, Sterchi D, Vollenweider F, Ludewig K, Fruh H. (2001). A neural network approach to the acoustic startle reflex and prepulse inhibition. *Brain Research Bulletin*, 56(2):101e10.
- Li, L., Du, Y., Li, N., Wu, X., & Wu, Y. (2009). Top-down modulation of prepulse inhibition of the startle reflex in humans and rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 33(8), 1157-1167. doi:10.1016/j.neubiorev.2009.02.001
- Li, S. M., Ren, Y. H., & Zheng, J. W. (2002). Effect of 7-nitroindazole on drug-priming reinstatement of D-methamphetamine-induced conditioned place preference. *European journal of pharmacology*, 443(1), 205-206.
- Livesey, P. J. (1966). The rat, rabbit and cat in the Hebb-Williams closed field test of animal intelligence. *Australian Journal of Psychology*, 18(1), 71-79. doi:10.1080/00049536608255718

- Lubman, D. I., Allen, N. B., Rogers, N., Cementon, E., & Bonomo, Y. (2007). The impact of co-occurring mood and anxiety disorders among substance-abusing youth. *Journal of affective disorders*, 103(1), 105-112. doi:10.1016/j.jad.2007.01.011
- Ludewig, S., & Ludewig, K. (2003). No prepulse inhibition deficits in patients with unipolar depression. *Depression and anxiety*, 17(4), 224-225. doi: 10.1002/da.10109
- Ludewig, S., Geyer, M. A., Ramseier, M., Vollenweider, F. X., Rechsteiner, E., & Cattapan-Ludewig, K. (2005). Information-processing deficits and cognitive dysfunction in panic disorder. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 30(1), 37.
- Ludewig, S., Ludewig, K., Geyer, M. A., Hell, D., & Vollenweider, F. X. (2002). Prepulse inhibition deficits in patients with panic disorder. *Depression and anxiety*, 15(2), 55-60. doi: 10.1002/da.10026
- Madoz-Gúrpide, A., Mangado, E. O., & Pelegrín, B. M. (2009). Consumo de cocaína y daño neuropsicológico. Implicaciones clínicas. *Medicina clínica*, 132(14), 555-559. doi:10.1016/j.medcli.2008.07.019
- Mak, A. K., Hu, Z. G., Zhang, J. X., Xiao, Z. W., & Lee, T. M. (2009). Neural correlates of regulation of positive and negative emotions: an fMRI study. *Neuroscience letters*, 457(2), 101-106. doi:10.1016/j.neulet.2009.03.094

Bibliografía

- Maldonado, C., Rodríguez-Arias, M., Castillo, A., Aguilar, M. A., & Minarro, J. (2007). Effect of memantine and CNQX in the acquisition, expression and reinstatement of cocaine-induced conditioned place preference. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 31(4), 932-939. doi:10.1016/j.pnpbp.2007.02.012
- Maldonado, C., Rodríguez-Arias, M., Castillo, A., Aguilar, M. A., & Miñarro, J. (2006). Gamma-hydroxybutyric acid affects the acquisition and reinstatement of cocaine-induced conditioned place preference in mice. *Behavioural pharmacology*, 17(2), 119-131.
- Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, J. (2001). Effects of dopamine antagonists with different receptor blockade profiles on morphine-induced place preference in male mice. *Behavioural brain research*, 121(1), 189-197. doi:10.1016/S0166-4328(01)00164-4
- Manzanedo, C., García-Pardo, M. P., Rodríguez-Arias, M., Miñarro, J., & Aguilar, M. A. (2012). Pre-treatment with high doses of cocaine decreases the reinforcing effects of cocaine in the conditioned place preference paradigm. *Neuroscience letters*, 516(1), 29-33. doi:10.1016/j.neulet.2012.03.044
- Martinez, D. L., & Geyer, M. A. (1997). Characterization of the disruptions of prepulse inhibition and habituation of startle induced by α -ethyltryptamine. *Neuropsychopharmacology*, 16(3), 246-255. doi:10.1016/S0893-133X(96)00240-0

- Martinez, D., Broft, A., Foltin, R. W., Slifstein, M., Hwang, D. R., Huang, Y., & Frankel, W. G. (2004). Cocaine dependence and d2 receptor availability in the functional subdivisions of the striatum: relationship with cocaine-seeking behavior. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 29(6), 1190-1202.
- Martinez, D., Narendran, R., Foltin, R. W., Slifstein, M., Hwang, D. R., Broft, A., ... & Laruelle, M. (2007). Amphetamine-induced dopamine release: markedly blunted in cocaine dependence and predictive of the choice to self-administer cocaine. *The American journal of psychiatry*, 164(4), 622-629.
- Martínez, M., López, J. M., & Pérez, V. M. S. (1991). Análisis etoexperimental de la conducta agonística en ratones. *Psicológica: Revista de metodología y psicología experimental*, 12(1), 1-22.
- Martinez, Z. A., Ellison, G. D., Geyer, M. A., & Swerdlow, N. R. (1999). Effects of sustained cocaine exposure on sensorimotor gating of startle in rats. *Psychopharmacology*, 142(3), 253-260.
- Mateos-García, A., Manzanedo, C., Rodríguez-Arias, M., Aguilar, M. A., Reig-Sanchis, E., Navarro-Francés, C. I., ... & Arenas, M. C. (2015). Sex differences in the long-lasting consequences of adolescent ethanol exposure for the rewarding effects of cocaine in mice. *Psychopharmacology*, 1-13. doi: 10.1007/s00213-015-3937-7

Bibliografía

- Mateos-García, A., Roger-Sánchez, C., Rodríguez-Arias, M., Miñarro, J., Aguilar, M. A., Manzanedo, C., & Arenas, M. C. (2014). Higher sensitivity to the conditioned rewarding effects of cocaine and MDMA in High-Novelty-Seekers mice exposed to a cocaine binge during adolescence. *Psychopharmacology*, *232*(1), 101-113. doi: 10.1007/s00213-014-3642-y
- McConnell, M. M., & Shore, D. I. (2011). Upbeat and happy: Arousal as an important factor in studying attention. *Cognition & emotion*, *25*(7), 1184-1195. doi: 10.1080/02699931.2010.524396
- McCord, J., Jneid, H., Hollander, J. E., de Lemos, J. A., Cercek, B., Hsue, P., ... & Newby, L. K. (2008). Management of cocaine-associated chest pain and myocardial infarction a scientific statement from the American heart association acute cardiac care committee of the council on clinical cardiology. *Circulation*, *117*(14), 1897-1907. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.188950.
- Mcgeehan, A. J., & Olive, M. F. (2006). Attenuation of cocaine-induced reinstatement of cocaine conditioned place preference by acamprosate. *Behavioural pharmacology*, *17*(4), 363-367.
- McGlashan, T. H., & Hoffman, R. E. (2000). Schizophrenia as a disorder of developmentally reduced synaptic connectivity. *Archives of General Psychiatry*, *57*(7), 637-648.
- Merritt, K. E., & Bachtell, R. K. (2013). Initial D2 dopamine receptor sensitivity predicts cocaine sensitivity and reward in rats. *Plos One*, *8*(11), e78258. doi: 10.1371/journal.pone.0078258.

- Meunier, M., Saint-Marc, M., & Destrade, C. (1986). The Hebb-Williams test to assess recovery of learning after limbic lesions in mice. *Physiology & behavior*, 37(6), 909-913. doi:10.1016/S0031-9384(86)80011-7
- Miller, E. J., Saint Marie, L. R., Breier, M. R., & Swerdlow, N. R. (2010). Pathways from the ventral hippocampus and caudal amygdala to forebrain regions that regulate sensorimotor gating in the rat. *Neuroscience*, 165(2), 601-611. doi:10.1016/j.neuroscience.2009.10.036
- Montagud-Romero, S., Daza-Losada, M., Vidal-Infer, A., Maldonado, C., Aguilar, M. A., Miñarro, J., & Rodríguez-Arias, M. (2014). The novelty-seeking phenotype modulates the long-lasting effects of intermittent ethanol administration during adolescence. *PloS one*, 9(3), e92576. doi:10.1371/journal.pone.0092576
- Mori, T., Shibasaki, M., Ogawa, Y., Hokazono, M., Wang, T. C., Rahmadi, M., & Suzuki, T. (2013). Comparison of the behavioral effects of bupropion and psychostimulants. *European journal of pharmacology*, 718(1), 370-375. doi:10.1016/j.ejphar.2013.07.046
- Mueller, D., & Stewart, J. (2000). Cocaine-induced conditioned place preference: reinstatement by priming injections of cocaine after extinction. *Behavioural brain research*, 115(1), 39-47. doi:10.1016/S0166-4328(00)00239-4
- Mugford, R., & Nowell, N. W. (1970). Pheromones and their effect on aggression in mice. doi:10.1038/226967a0

Bibliografia

- Nader, M. A., Czoty, P. W., Gould, R. W., & Riddick, N. V. (2008). Positron emission tomography imaging studies of dopamine receptors in primate models of addiction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 363(1507), 3223-3232. doi: 10.1098/rstb.2008.0092
- Nader, M. A., Morgan, D., Gage, H. D., Nader, S. H., Calhoun, T. L., Buchheimer, N., ... & Mach, R. H. (2006). PET imaging of dopamine D2 receptors during chronic cocaine self-administration in monkeys. *Nature neuroscience*, 9(8), 1050-1056. doi:10.1038/nn1737
- Navarro-Francés, C. I., & Arenas, M. C. (2014). Influence of trait anxiety on the effects of acute stress on learning and retention of the passive avoidance task in male and female mice. *Behavioural processes*, 105, 6-14. doi:10.1016/j.beproc.2014.02.009
- Nestler, E. (2005). Neurobiology of drug addiction. *Science & practice perspectives*, 3 (4), 6-10.
- Nestler, E. J., & Hyman, S. E. (2010). Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nature neuroscience*, 13(10), 1161-1169. doi:10.1038/nn.2647
- Nieoullon, A. (2002). Dopamine and the regulation of cognition and attention. *Progress in neurobiology*, 67(1), 53-83.
- Niigaki, S. T., Silva, R. H., Patti, C. L., Cunha, J. L. S., Kameda, S. R., Correia-Pinto, J. C., ... & Frussa-Filho, R. (2010). Amnestic effect of cocaine after the termination of its stimulant action. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 34(1), 212-218. doi:10.1016/j.pnpbp.2009.11.010

- Niu, H., He, X., Zhou, T., Shi, X., Zhang, Q., Zhang, Z., & Hu, M. (2015). Neural circuits containing olfactory neurons are involved in the prepulse inhibition of the startle reflex in rats. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 9. doi: 10.3389/fnbeh.2015.00074
- Nnadi, C. U., Mimiko, O. A., McCurtis, H. L., & Cadet, J. L. (2005). Neuropsychiatric effects of cocaine use disorders. *Journal of the National Medical Association*, 97(11), 1504.
- O'Brien, C. P., Charney, D. S., Lewis, L., Cornish, J. W., Post, R. M., Woody, G. E. ... Weisner, C. (2004). Priority actions to improve the care of persons with co-occurring substance abuse and other mental disorders: A call to action. *Biological Psychiatry*, 56, 703-713. doi:10.1016/j.biopsych.2004.10.002.
- O'Brien, C. (2001). *Drug addiction and drug abuse*. In *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York: McGraw-Hill; 2001:621-642
- O'Dell, L. E., George, F. R., & Ritz, M. C. (2000). Antidepressant drugs appear to enhance cocaine-induced toxicity. *Experimental and clinical psychopharmacology*, 8(1), 133.
- Oranje, B., Kahn, R. S., Kemner, C., & Verbaten, M. N. (2004). Modulating sensorimotor gating in healthy volunteers: the effects of desipramine and haloperidol. *Psychiatry research*, 127(3), 195-205.
- Ornitz, E. M., Guthrie, D., Sadehpour, M., & Sugiyama, T. (1991). Maturation of Prestimulation-Induced Startle Modulation in Girls. *Psychophysiology*, 28(1), 11-20.

Bibliografía

- Ortega-Alvaro, A., Aracil-Fernández, A., García-Gutiérrez, M. S., Navarrete, F., & Manzanares, J. (2011). Deletion of CB2 cannabinoid receptor induces schizophrenia-related behaviors in mice. *Neuropsychopharmacology*, 36(7), 1489-1504. doi:10.1038/npp.2011.34
- Palanza, P., Gioiosa, L., & Parmigiani, S. (2001). Social stress in mice: gender differences and effects of estrous cycle and social dominance. *Physiology & behavior*, 73(3), 411-420. doi:10.1016/S0031-9384(01)00494-2
- Pascual, M., Do Couto, B. R., Alfonso-Loeches, S., Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., & Guerri, C. (2012). Changes in histone acetylation in the prefrontal cortex of ethanol-exposed adolescent rats are associated with ethanol-induced place conditioning. *Neuropharmacology*, 62(7), 2309-2319. doi:10.1016/j.neuropharm.2012.01.011
- Pavlov, I. P. (1927). Conditioned reflexes. An Investigation of the physiological activity of the cerebral cortex.
- Peleg-Raibstein, D., Hauser, J., Lopez, L. H. L., Feldon, J., Gargiulo, P. A., & Yee, B. K. (2013). Baseline prepulse inhibition expression predicts the propensity of developing sensitization to the motor stimulant effects of amphetamine in C57BL/6 mice. *Psychopharmacology*, 225(2), 341-352.
- Peleg-Raibstein, D., Philipp, S., Feldon, J., & Yee, B. K. (2015). Individual difference in prepulse inhibition does not predict spatial learning and memory performance in C57BL/6 mice. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, 1-11. doi:10.3758/s13415-015-0356-5

- Peña, Y. (2007). El enriquecimiento Ambiental en ratas: efectos diferenciales en función del sexo (Doctoral dissertation, Tesis doctoral de la Universidad Autónoma de Barcelona. Dept. de Biología celular).
- Pereira, R. B., Andrade, P. B., & Valentão, P. (2015). A Comprehensive View of the Neurotoxicity Mechanisms of Cocaine and Ethanol. *Neurotoxicity research*, 1-15. doi: 10.1007/s12640-015-9536-x
- Perrine, S. A., Sheikh, I. S., Nwaneshiudu, C. A., Schroeder, J. A., & Unterwald, E. M. (2008). Withdrawal from chronic administration of cocaine decreases delta opioid receptor signaling and increases anxiety-and depression-like behaviors in the rat. *Neuropharmacology*, 54(2), 355-364. doi:10.1016/j.neuropharm.2007.10.007
- Perry, W., & Viglione Jr, D. J. (1991). The Ego Impairment Index as a predictor of outcome in melancholic depressed patients treated with tricyclic antidepressants. *Journal of Personality Assessment*, 56(3), 487-501. doi: 10.1207/s15327752jpa5603_10
- Perry, W., Kincaid, A., & Feifel, D. (2004). Prepulse inhibition in patients with non-psychotic major depressive disorder. *Journal of affective disorders*, 81(2), 179-184. doi:10.1016/S0165-0327(03)00157-5
- Powers, M. S., & Chester, J. A. (2014). Effects of stress, acute alcohol treatment, or both on pre-pulse inhibition in high-and low-alcohol preferring mice. *Alcohol*, 48(2), 113-122. doi:10.1016/j.alcohol.2013.12.002

Bibliografia

- Preller, K. H., Ingold, N., Hulka, L. M., Vonmoos, M., Jenni, D., Baumgartner, M. R., ... & Quednow, B. B. (2013). Increased sensorimotor gating in recreational and dependent cocaine users is modulated by craving and attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms. *Biological psychiatry*, 73(3), 225-234. doi:10.1016/j.biopsych.2012.08.003
- Prentice, K. J., Gold, J. M., & Buchanan, R. W. (2008). The Wisconsin Card Sorting impairment in schizophrenia is evident in the first four trials. *Schizophrenia research*, 106(1), 81-87. doi:10.1016/j.schres.2007.07.015
- Quednow, B. B., Westheide, J., Kühn, K. U., Werner, P., Maier, W., Hawellek, B., & Wagner, M. (2006). Normal prepulse inhibition and habituation of acoustic startle response in suicidal depressive patients without psychotic symptoms. *Journal of affective disorders*, 92(2), 299-303. doi:10.1016/j.jad.2006.01.022
- Rajagopal, L., W Massey, B., Huang, M., Oyamada, Y., & Y Meltzer, H. (2014). The novel object recognition test in rodents in relation to cognitive impairment in schizophrenia. *Current pharmaceutical design*, 20(31), 5104-5114.
- Ralph, R. J., & Caine, S. B. (2005). Dopamine D1 and D2 agonist effects on prepulse inhibition and locomotion: comparison of Sprague-Dawley rats to Swiss-Webster, 129X1/SvJ, C57BL/6J, and DBA/2J mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 312(2), 733-741.

- Ralph, R. J., & Caine, S. B. (2007). Effects of selective dopamine D1-like and D2-like agonists on prepulse inhibition of startle in inbred C3H/HeJ, SPRET/EiJ, and CAST/EiJ mice. *Psychopharmacology*, *191*(3), 731-739.
- Ralph, R. J., Paulus, M. P., & Geyer, M. A. (2001a). Strain-specific effects of amphetamine on prepulse inhibition and patterns of locomotor behavior in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *298*(1), 148-155.
- Ralph, R. J., Paulus, M. P., Fumagalli, F., Caron, M. G., & Geyer, M. A. (2001b). Prepulse inhibition deficits and perseverative motor patterns in dopamine transporter knock-out mice: differential effects of D1 and D2 receptor antagonists. *The Journal of Neuroscience*, *21*(1), 305-313.
- Ralph, R. J., Varty, G. B., Kelly, M. A., Wang, Y. M., Caron, M. G., Rubinstein, M., ... & Geyer, M. A. (1999). The dopamine D2, but not D3 or D4, receptor subtype is essential for the disruption of prepulse inhibition produced by amphetamine in mice. *The Journal of neuroscience*, *19*(11), 4627-4633.
- Ralph-Williams, R.J., Lehmann-Masten, V., Otero-Corchon, V., Low, M.J., Geyer, M.A. (2002). Differential Effects of Direct and Indirect Dopamine Agonists on Prepulse Inhibition: A Study in D1 and D2 Receptor Knock-Out Mice. *The Journal of Neuroscience*, *22*(21), 9604–9611.
- Ralph-Williams, R. J., Lehmann-Masten, V., & Geyer, M. A. (2003). Dopamine D1 rather than D2 receptor agonists disrupt prepulse inhibition of startle in mice. *Neuropsychopharmacology*. *28*(1),108-18

Bibliografía

- Regier, D. A., Farmer, M. E., Rae, D. S., Locke, B. Z., Keith, S. J., Judd, L. L., & Goodwin, F. K. (1990). Comorbidity of mental disorders with alcohol and other drug abuse: Results from the Epidemiologic Catchment Area (ECA) study. *Jama*, 264(19), 2511-2518.
- Rejón-Orantes, J., Placer Perdomo D., y Roldán, G. (2011). Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad ansiolítica de sustancias extraídas de plantas. *Universitas Médicas, Redalyc*. Universidad de Méica de Bogotá (Colombia), 52 (1), 78-89.
- Reyes-Montaña, E. A., & Reyes-Guzmán, E. A. (2012). *Cocaine Addiction: Changes in Excitatory and Inhibitory Neurotransmission*. INTECH Open Access Publisher.
- Ribeiro Do Couto, B., Aguilar, M. A., Lluch, J., Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, J. (2009). Social experiences affect reinstatement of cocaine-induced place preference in mice. *Psychopharmacology*, 207(3), 485-498. doi: 10.1007/s00213-009-1678-1
- Ribeiro Do Couto, B., Aguilar, M. A., Manzanedo, C., Rodriguez-Arias, M., Armario, A., & Minarro, J. (2006). Social stress is as effective as physical stress in reinstating morphine-induced place preference in mice. *Psychopharmacology*, 185(4), 459-470. doi: 10.1007/s00213-006-0345-z
- Richmond, J., Sowerby, P., Colombo, M., & Hayne, H. (2004). The effect of familiarization time, retention interval, and context change on adults' performance in the visual paired-comparison task. *Developmental Psychobiology*, 44(2), 146-155. doi: 10.1002/dev.10161

- Ritz, M. C., Lamb, R. J., & Kuhar, M. J. (1987). Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. *Science*, 237(4819), 1219-1223.
- Rodríguez, C. A., Torres, A., Mackintosh, N. J., & Chamizo, V. D. (2010). Sex differences in the strategies used by rats to solve a navigation task. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 36(3), 395. <http://dx.doi.org/10.1037/a0017297>
- Rodríguez-Arias, M., & Aguilar, M. A. (2012). *Polydrug use in adolescence*. INTECH Open Access Publisher.
- Rodríguez-Arias, M., Minarro, J., Aguilar, M. A., Pinazo, J., & Simon, V. M. (1998). Effects of risperidone and SCH 23390 on isolation-induced aggression in male mice. *European neuropsychopharmacology*, 8(2), 95-103. doi:10.1016/S0924-977X(97)00051-5
- Rodríguez-Arias, M., Vaccaro, S., Arenas, M. C., Aguilar, M. A., & Miñarro, J. (2015). The novelty-seeking phenotype modulates the long-lasting effects of adolescent MDMA exposure. *Physiology & behavior*, 141, 190-198. doi:10.1016/j.physbeh.2015.01.023
- Rogers, D. C., Jones, D. N., Nelson, P. R., Jones, C. M., Quilter, C. A., Robinson, T. L., & Hagan, J. J. (1999). Use of SHIRPA and discriminant analysis to characterise marked differences in the behavioural phenotype of six inbred mouse strains. *Behavioural brain research*, 105(2), 207-217. doi:10.1016/S0166-4328(99)00072-8

Bibliografia

- Romieu, P., Meunier, J., Garcia, D., Zozime, N., Martin-Fardon, R., Bowen, W. D., & Maurice, T. (2004). The sigma1 (σ_1) receptor activation is a key step for the reactivation of cocaine conditioned place preference by drug priming. *Psychopharmacology*, 175(2), 154-162. doi: 10.1007/s00213-004-1814-x
- Ross, H. E., Glaser, F. B., & Germanson, T. (1988). The prevalence of psychiatric disorders in patients with alcohol and other drug problems. *Archives of General Psychiatry*, 45(11), 1023-1031.
- Rossi, N. A., & Reid, L. D. (1976). Affective states associated with morphine injections. *Physiological Psychology*, 4(3), 269-274.
- Rougé-Pont, F., Usiello, A., Benoit-Marand, M., Gonon, F., Piazza, P. V., & Borrelli, E. (2002). Changes in extracellular dopamine induced by morphine and cocaine: crucial control by D2 receptors. *The Journal of neuroscience*, 22(8), 3293-3301.
- Rounsaville, B. J., Anton, S. F., Carroll, K., Budde, D., Prusoff, B. A., & Gawin, F. (1991). Psychiatric diagnoses of treatment-seeking cocaine abusers. *Archives of general psychiatry*, 48(1), 43-51.
- Rush, B., & Koegl, C. J. (2008). Prevalence and profile of people with co-occurring mental and substance use disorders within a comprehensive mental health system. *Canadian journal of psychiatry*, 53(12), 810-821.

- Saint Marie, R. L., Miller, E. J., Breier, M. R., Weber, M., & Swerdlow, N. R. (2010). Projections from ventral hippocampus to medial prefrontal cortex but not nucleus accumbens remain functional after fornix lesions in rats. *Neuroscience*, 168(2), 498-504. doi:10.1016/j.neuroscience.2010.03.037
- Salokangas, R. K., Honkonen, T., & Saarinen, S. (2003). Women have later onset than men in schizophrenia—but only in its paranoid form. Results of the DSP project. *European psychiatry*, 18(6), 274-281. doi:10.1016/j.eurpsy.2003.03.001
- Sánchez-Sánchez, I., Sánchez-Marín, F.J. y Sin-Villagomez, R. (2011). Diferencias de género en la orientación espacial en un ambiente virtual. *Revista Mexicana de Psicología*, 28 (2), 211-216.
- Sanchez, C. J., & Sorg, B. A. (2001). Conditioned fear stimuli reinstate cocaine-induced conditioned place preference. *Brain research*, 908(1), 86-92. doi:10.1016/S0006-8993(01)02638-5
- Sanchez, C. J., Bailie, T. M., Wu, W. R., Li, N., & Sorg, B. A. (2003). Manipulation of dopamine d1-like receptor activation in the rat medial prefrontal cortex alters stress-and cocaine-induced reinstatement of conditioned place preference behavior. *Neuroscience*, 119(2), 497-505. doi:10.1016/S0306-4522(03)00078-2
- Seale, T. W., & Carney, J. M. (1991). Genetic Determinants of Suceptability to the Rewarding and Other Behavioral Actions of Cocaine. *Journal of addictive diseases*, 10(1-2), 141-162. doi:10.1300/J069v10n01_10

Bibliografia

- Shaham, Y., Shalev, U., Lu, L., de Wit, H., & Stewart, J. (2003). The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. *Psychopharmacology*, 168(1), 3-20. doi: 10.1007/s00213-002-1224-x
- Shalev, U., Grimm, J. W., & Shaham, Y. (2002). Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review. *Pharmacological reviews*, 54(1), 1-42.
- Shanti, C. M., & Lucas, C. E. (2003). Cocaine and the critical care challenge. *Critical care medicine*, 31(6), 1851-1859.
- Shibasaki, Y., Hayata-Takano, A., Hazama, K., Nakazawa, T., Shintani, N., Kasai, A., ... & Hashimoto, H. (2015). Atomoxetine reverses locomotor hyperactivity, impaired novel object recognition, and prepulse inhibition impairment in mice lacking pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Neuroscience*, 297,95-104. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.03.062
- Shoblock, J. R., Wichmann, J., & Maidment, N. T. (2005). The effect of a systemically active ORL-1 agonist, Ro 64-6198, on the acquisition, expression, extinction, and reinstatement of morphine conditioned place preference. *Neuropharmacology*, 49(4), 439-446.
- Smoothy, R., Brain, P. F., Berry, M. S., & Haug, M. (1986). Alcohol and social behaviour in group-housed female mice. *Physiology & behavior*, 37(5), 689-694. doi:10.1016/0031-9384(86)90173-3
- Spragg, S. D. S. (1940). Morphine addiction in chimpanzees. *Comparative Psychology Monographs*.

- Stanford, L., & Brown, R. E. (2003). MHC-congenic mice (C57BL/6J and B6-H-2K) show differences in speed but not accuracy in learning the Hebb–Williams Maze. *Behavioural brain research*, 144(1), 187-197. doi:10.1016/S0166-4328(03)00093-7
- Stein, D. J. (2002). Obsessive-compulsive disorder. *The Lancet*, 360(9330), 397-405.
- Stinson, F. S., Grant, B. F., Dawson, D. A., Ruan, W. J., Huang, B., & Saha, T. (2005). Comorbidity between DSM-IV alcohol and specific drug use disorders in the United States: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Drug and alcohol dependence*, 80(1), 105-116.
- Sweatt, J. D. (2009). *Mechanisms of memory*. Chapter 4. Rodent Behavioral Learning and Memory Models. *Academic Press*.
- Swerdlow, N. R. (2013). Update: Studies of prepulse inhibition of startle, with particular relevance to the pathophysiology or treatment of Tourette Syndrome. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(6), 1150-1156. doi: 10.1016/j.neubiorev.2012.09.002
- Swerdlow, N. R., & Geyer, M. A. (1993a). Prepulse inhibition of acoustic startle in rats after lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus. *Behavioral neuroscience*, 107(1), 104.
- Swerdlow, N. R., & Geyer, M. A. (1993b). Clozapine and haloperidol in an animal model of sensorimotor gating deficits in schizophrenia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 44(3), 741-744.

Bibliografía

- Swerdlow, N. R., & Koob, G. F. (1987). Dopamine, schizophrenia, mania, and depression: toward a unified hypothesis of cortico-striatopallido-thalamic function. *Behavioral and brain sciences*, 10(02), 197-208.
- Swerdlow, N. R., Braff, D. L., & Geyer, M. A. (1999). Cross-species Studies of Sensorimotor Gating of the Startle Reflex. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877(1), 202-216.
- Swerdlow, N. R., Caine, S. B., Braff, D. L., & Geyer, M. A. (1992). The neural substrates of sensorimotor gating of the startle reflex: a review of recent findings and their implications. *Journal of Psychopharmacology*, 6(2), 176-190.
- Swerdlow, N. R., Filion, D., Geyer, M. A., & Braff, D. L. (1995). “Normal” personality correlates of sensorimotor, cognitive, and visuospatial gating. *Biological psychiatry*, 37(5), 286-299. doi:10.1016/0006-3223(94)00138-S
- Swerdlow, N. R., Light, G. A., Cadenhead, K. S., Sprock, J., Hsieh, M. H., & Braff, D. L. (2006). Startle gating deficits in a large cohort of patients with schizophrenia: relationship to medications, symptoms, neurocognition, and level of function. *Archives of General Psychiatry*, 63(12), 1325-1335. doi:10.1001/archpsyc.63.12.1325
- Swerdlow, N. R., Stephany, N., Wasserman, L. C., Talledo, J., Shoemaker, J., & Auerbach, P. P. (2003a). Amphetamine effects on prepulse inhibition across-species: replication and parametric extension. *Neuropsychopharmacology*. 28(4):640-50.

- Swerdlow, N. R., Wasserman, L. C., Talledo, J. A., Casas, R., Bruins, P., & Stephany, N. L. (2003b). Prestimulus modification of the startle reflex: relationship to personality and physiological markers of dopamine function. *Biological psychology*, 62(1), 17-26. doi:10.1016/S0301-0511(02)00090-X
- Swerdlow, N. R., Weber, M., Qu, Y., Light, G. A., & Braff, D. L. (2008). Realistic expectations of prepulse inhibition in translational models for schizophrenia research. *Psychopharmacology*, 199(3), 331-388. doi: 10.1007/s00213-008-1072-4
- Swerdlow, N., Geyer, M. A., & Braff, D. (2001). Neural circuit regulation of prepulse inhibition of startle in the rat: current knowledge and future challenges. *Psychopharmacology*, 156(2-3), 194-215. doi:10.1007/s002130100799
- Szerman, N. B., Arias, F. H., Vega, P. A., Babín, F. D. A. V., Mesias, B. P., Basurte, I. V., ... & Félix, F. C. (2011). Estudio piloto sobre la prevalencia de patología dual en pacientes en tratamiento en la Comunidad de Madrid. *Adicciones: Revista de sociodrogalcohol*, 23(3), 249-255.
- Szumliński, K. K., Price, K. L., Frys, K. A., & Middaugh, L. D. (2002). Unconditioned and conditioned factors contribute to the 'reinstatement' of cocaine place conditioning following extinction in C57BL/6 mice. *Behavioural brain research*, 136(1), 151-160. doi:10.1016/S0166-4328(02)00102-X

Bibliografia

- Takahashi, H., Hashimoto, R., Iwase, M., Ishii, R., Kamio, Y., & Takeda, M. (2011). Prepulse Inhibition of Startle Response: Recent Advances in Human Studies of Psychiatric Disease. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, 9(3), 102-110. doi:10.9758/cpn.2011.9.3.102
- Tek, C., Gold, J., Blaxton, T., Wilk, C., McMahon, R. P., & Buchanan, R. W. (2002). Visual perceptual and working memory impairments in schizophrenia. *Archives of general psychiatry*, 59(2), 146-153. doi:10.1001/archpsyc.59.2.146
- Tella, S. R., Schindler, C. W., & Goldberg, S. R. (1993). Cocaine: cardiovascular effects in relation to inhibition of peripheral neuronal monoamine uptake and central stimulation of the sympathoadrenal system. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 267(1), 153-162.
- Thanos, P. K., Michaelides, M., Umegaki, H., & Volkow, N. D. (2008). D2R DNA transfer into the nucleus accumbens attenuates cocaine self-administration in rats. *Synapse (New York, NY)*, 62(7), 481. doi: 10.1002/syn.20523.
- Thomasius, R., Sack, P. M., & Petersen, K. U. (2010). DSM-iv Axis-i comorbidity among illicit drug users seeking treatment for substance use disorders: results from the Multi-centre Study of Psychiatric Comorbidity in Drug Addicts (MUPCDA). *Mental Health and Substance Use: Dual diagnosis*, 3(3), 182-192. doi:10.1080/17523281.2010.504643

- Torrens Melich, M. (2008). Patología dual: situación actual y retos de futuro. In *Adicciones: Revista de sociodrogalcohol* (Vol. 20, pp. 0315-320).
- Torrens, M., Gilchrist, G., & Domingo-Salvany, A. (2011). Psychiatric comorbidity in illicit drug users: substance-induced versus independent disorders. *Drug and Alcohol Dependence*, 113(2), 147-156. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2010.07.013
- Tortajada, S., Herrero, M. J., Domingo-Salvany, A., Molist, G., & Barrio, G. (2012). Morbilidad psiquiátrica en consumidores de cocaína y heroína reclutados en la comunidad. *Psychiatric morbidity among cocaine and heroin users in the community. Adicciones*, 24(3), 201-210.
- Trifilieff, P., & Martinez, D. (2014). Imaging addiction: D 2 receptors and dopamine signaling in the striatum as biomarkers for impulsivity. *Neuropharmacology*, 76, 498-509. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.06.031
- Trivers, R. (1972). Parental investment and sexual selection. *Sexual Selection and the Descent of Man*, 136-179.
- Trullas, R., & Skolnick, P. (1993). Differences in fear motivated behaviors among inbred mouse strains. *Psychopharmacology*, 111(3), 323-331. doi: 10.1007/BF02244948
- Tzschentke, T. M. (1998). Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. *Progress in neurobiology*, 56(6), 613-672. doi:10.1016/S0301-0082(98)00060-4

Bibliografía

- Tzschentke, T. M. (2007). Review on CPP: Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade. *Addiction biology*, 12(3-4), 227-462.
- Valsamis, B., & Schmid, S. (2011). Habituation and prepulse inhibition of acoustic startle in rodents. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (55). doi: 10.3791/3446
- Venables, P. H. (1960). The effect of auditory and visual stimulation on the skin potential response of schizophrenics. *Brain*, 83(1), 77-92.
- Verdejo-García, A. J., Perales, J. C., & Pérez-García, M. (2007). Cognitive impulsivity in cocaine and heroin polysubstance abusers. *Addictive behaviors*, 32(5), 950-966. doi:10.1016/j.addbeh.2006.06.032
- Verdejo-García, A., Bechara, A., Recknor, E. C., & Perez-Garcia, M. (2006). Executive dysfunction in substance dependent individuals during drug use and abstinence: an examination of the behavioral, cognitive and emotional correlates of addiction. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 12(03), 405-415. doi: <http://dx.doi.org/10.1017/S1355617706060486>
- Vergara-Moragues, E., González-Saíz, F., Lozano, O.M., Betanzos, P., Fernández, F., Bilbao-Acebos, I.,...Verdejo, A. (2012). Psychiatric comorbidity in cocaine users treated in therapeutic community. Substance induced versus independent disorders. *Psychiatry Research*, 30, 734-41. doi: 10.1016/j.psychres.2012.07.043.

- Vidal-Infer, A., Arenas, M. C., Daza-Losada, M., Aguilar, M. A., Miñarro, J., & Rodríguez-Arias, M. (2012a). High novelty-seeking predicts greater sensitivity to the conditioned rewarding effects of cocaine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 102(1), 124-132. doi:10.1016/j.pbb.2012.03.031
- Vidal-Infer, A., Aguilar, M. A., Miñarro, J., & Rodríguez-Arias, M. (2012b). Effect of intermittent exposure to ethanol and MDMA during adolescence on learning and memory in adult mice. *Behavioral and Brain Functions*, 8 (32), 2-12.
- Vogel, S. J., Strauss, G. P., & Allen, D. N. (2013). Using negative feedback to guide behavior: Impairments on the first 4 cards of the Wisconsin Card Sorting Test predict negative symptoms of schizophrenia. *Schizophrenia research*, 151(1), 97-101. doi: 10.1016/j.schres.2013.07.052.
- Volkow N.D. NIDA-Institute on Drug Abuse (2010). *Research Reports Series: Cocaine*. Recuperado el: 14 de Julio de 2015. <http://www.drugabuse.gov/publications/research-reports/cocaine/letter-director>
- Volkow, N. D (2004). The reality of comorbidity: depression and drug abuse. *Biological Psychiatry*, 56, 714-7. doi:10.1016/j.biopsych.2004.07.007.
- Volkow, N. D. Adicction and co-occurring mental disorders. Director's perspective. 2007. *NIDA Notes*, 21(2).
- Volkow, N. D., Fowler, J. S., Wang, G. J., Baler, R., & Telang, F. (2009). Imaging dopamine's role in drug abuse and addiction. *Neuropharmacology*, 56, 3-8. doi:10.1016/j.neuropharm.2008.05.022

Bibliografia

- Volkow, N. D., Fowler, J. S., Wang, G. J., Hitzemann, R., Logan, J., Schlyer, D. J., ... & Wolf, A. P. (1993). Decreased dopamine D2 receptor availability is associated with reduced frontal metabolism in cocaine abusers. *Synapse*, (14), 169-77.
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., Logan, J., Gatley, S. J., Gifford, A., ... & Pappas, N. (1999). Prediction of reinforcing responses to psychostimulants in humans by brain dopamine D2 receptor levels. *American Journal of Psychiatry*, 156(9):1440-3.
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., Logan, J., Gatley, S. J., Hitzemann, R., ...& Pappas, N. (1997). Decreased striatal dopaminergic responsiveness in detoxified cocaine-dependent subjects. *Nature*, 386,830–833.
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., Tomasi, D., & Telang, F. (2011). Addiction: beyond dopamine reward circuitry. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(37), 15037-15042. doi: 10.1073/pnas.1010654108
- Vollenweider, F. X., Barro, M., Csomor, P. A., & Feldon, J. (2006). Clozapine enhances prepulse inhibition in healthy humans with low but not with high prepulse inhibition levels. *Biological psychiatry*, 60(6), 597-603.
- Wang, J. L., Wang, B., & Chen, W. (2014). Differences in cocaine-induced place preference persistence, locomotion and social behaviors between C57BL/6J and BALB/cJ mice. *Zoological research*, 35(5), 426. doi:10.13918/j.issn.2095-8137.2014.5.426.
- Warner, E. A. (1993). Cocaine abuse. *Annals of Internal Medicine*, 119(3), 226-235.

- Weaver, T., Madden, P., Charles, V., Stimson, G., Renton, A., Tyrer, P., ... & Ford, C. (2003). Comorbidity of substance misuse and mental illness in community mental health and substance misuse services. *The British Journal of Psychiatry*, 183(4), 304-313.
- Weiss, I. C., & Feldon, J. (2001). Environmental animal models for sensorimotor gating deficiencies in schizophrenia: a review. *Psychopharmacology*, 156(2-3), 305-326. doi:10.1007/s002130100800
- WHO-World Health Organization (2014). *World Drug Report*. Recuperado el: 14 de Julio de 2015. https://www.unodc.org/documents/wdr2014/World_Drug_Report_2014_web.pdf
- Xu, M. (1998). Unraveling Dopamine D3 Receptor Function in Response to Psychostimulants Using a Genetic Approach. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 844(1), 27-39.
- Xu, M., Guo, Y., Vorhees, C. V., & Zhang, J. (2000). Behavioral responses to cocaine and amphetamine administration in mice lacking the dopamine D1 receptor. *Brain research*, 852(1), 198-207.
- Xu, M., Hu, X. T., Cooper, D. C., Moratalla, R., Graybiel, A. M., White, F. J., & Tonegawa, S. (1994). Elimination of cocaine-induced hyperactivity and dopamine-mediated neurophysiological effects in dopamine D1 receptor mutant mice. *Cell*, 79(6), 945-955.

Bibliografía

- Yamashita, M., Fukushima, S., Shen, H. W., Hall, F. S., Uhl, G. R., Numachi, Y., ... & Sora, I. (2006). Norepinephrine transporter blockade can normalize the prepulse inhibition deficits found in dopamine transporter knockout mice. *Neuropsychopharmacology*, *31*(10), 2132-2139.
- Yan, Y., Kong, H., Wu, E. J., Newman, A. H., & Xu, M. (2013). Dopamine D3 receptors regulate reconsolidation of cocaine memory. *Neuroscience*, *241*, 32-40.
- Yan, Y., Newman, A. H., & Xu, M. (2014). Dopamine D1 and D3 receptors mediate reconsolidation of cocaine memories in mouse models of drug self-administration. *Neuroscience*, *278*, 154-164.
- Young, A. M. J., Joseph, M. H., & Gray, J. A. (1993). Latent inhibition of conditioned dopamine release in rat nucleus accumbens. *Neuroscience*, *54*(1), 5-9. doi:10.1016/0306-4522(93)90378-S
- Zavala, A. R., Weber, S. M., Rice, H. J., Alleweireldt, A. T., & Neisewander, J. L. (2003). Role of the prelimbic subregion of the medial prefrontal cortex in acquisition, extinction, and reinstatement of cocaine-conditioned place preference. *Brain research*, *990*(1), 157-164. doi:10.1016/S0006-8993(03)03452-8
- Zhang, J., Forkstam, C., Engel, J. A., & Svensson, L. (2000). Role of dopamine in prepulse inhibition of acoustic startle. *Psychopharmacology*, *149*(2), 181-188.
- Zhang, L., Lou, D., Jiao, H., Zhang, D., Wang, X., Xia, Y., ... & Xu, M. (2004). Cocaine-induced intracellular signaling and gene expression are oppositely regulated by the dopamine D1 and D3 receptors. *The Journal of neuroscience*, *24*(13), 3344-3354.

Zhang, Y., Mantsch, J. R., Schlussman, S. D., Ho, A., & Kreek, M. J. (2002). Conditioned place preference after single doses or “binge” cocaine in C57BL/6J and 129/J mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73(3), 655-662. doi:10.1016/S0091-3057(02)00859-6

