

Detección de aversiones gustativas inducidas por estímulos incondicionados débiles como la rotación

M.A. Ballesteros, M. Gallo * y A. Maldonado

Universidad de Granada

El objetivo principal de este estudio fue el desarrollo de un procedimiento conductual suficientemente potente para detectar aversiones inducidas en un único ensayo por estímulos aversivos débiles, concretamente rotación corporal y dosis bajas de LiCl, en ratas wistar. Dicho procedimiento implica el uso de una prueba de elección entre estímulos con diferentes preferencias previas. El experimento 1a demostró que utilizando una solución de café descafeinado y otra de vinagre de sidra, la aversión adquirida a la solución preferida (café) mediante rotación corporal sólo aparece en una prueba de elección posterior entre ambos estímulos, cuando se anula la neofobia al estímulo menos preferido (vinagre). Una única preexposición antes de la prueba de elección, es suficiente para anular el efecto de neofobia a dicho sabor (experimento 1b). En el experimento 2 el mismo procedimiento permitió detectar consistentemente aversiones inducidas por inyecciones intraperitoneales (i.p.) de cloruro de litio (LiCl) cuando se aplican dosis reducidas (0.2%p.c., peso corporal, 0.15Molar). La importancia de este procedimiento reside en que permite un mejor estudio de los procesos psicobiológicos implicados en el aprendizaje aversivo gustativo y por ello se propone como una herramienta comportamental especialmente sensible para la detección de aversiones inducidas por estímulos incondicionados débiles de distinta naturaleza.

Palabras clave: Aprendizaje aversivo gustativo, efectos incondicionados, rotación corporal.

El fenómeno de aprendizaje aversivo gustativo, demostrado por García, Kimeldorf y Koelling (1955) supuso una auténtica revolución en el estudio de la psicología del aprendizaje. Entre la variedad de agentes aversivos capaces de inducir dicho aprendizaje aversivo gustativo, el estímulo más comúnmente empleado en el laboratorio ha sido cloruro de litio (LiCl). Sin embargo, otras

* Los tres autores pertenecen al Depto. de Psicología Experimental y Fisiología de la Conducta de la Universidad de Granada.. M. Gallo también está adscrito al Instituto de Neurociencias Dr. F. Oloriz. Universidad de Granada. Correspondencia: M. Gallo, Dept. Psicología Experimental y Fisiología de la Conducta. Facultad de Psicología. Universidad de Granada. Campus Cartuja. 18071 Granada. España. E-mail: mgallo@platon.ugr.es

sustancias químicas tales como anfetamina (Swank, Shafe y Bernstein, 1995), carbacol (Bielavska y Bures, 1994), escopolamina, clorpromacina, nicotina (Ossenkopp y Giugno, 1990) y sulfato de cobre entre otras (Coil, Rogers, García y Novin, 1978; Nachman y Hartley, 1975), y procedimientos como **radiación** (García, Kimeldorf y Koelling, 1955) y **estimulación vestibular**, inducida ya sea mediante “carrera en rueda giratoria” (Lett y Grant, 1996; Lett, Grant y Gaboriko, 1998) o rotación corporal (Braun y McIntosh, 1973; Gallo y Puerto, 1986; Ossenkopp, Macrae, Bettin y Krvaliers, 1988), son agentes aversivos más o menos eficaces en la inducción de aversiones gustativas condicionadas.

Aunque no se trata de un estímulo fisiológico que en el medio ambiente natural sea producido por la ingestión de una sustancia nociva, la rotación corporal provoca un malestar gastrointestinal similar cualitativamente al que pueden producir otro tipo de agentes aversivos. En gatos y monos este malestar se manifiesta mediante náuseas y vómitos (Aaron y Brizzee, 1979; Borison y Borison, 1986; Roy y Brizzee, 1979; Wilpizeski, Lowry, Eyyonni, Rahed y Goldman, 1985), pero en ratas que no tienen capacidad emética, se han descrito diversos índices conductuales: disminución de la actividad general, analgesia, aumento en las defecaciones, reducción de la ingesta de bebida, alteraciones posturales... (Braun y McIntosh, 1973; Haroutunian, Riccio y Gaus, 1976; Ossenkopp et al, 1988). Teniendo en cuenta dichos índices, la duración del malestar gastrointestinal se circunscribe al tiempo de aplicación y un breve periodo posterior que no va más allá de unos minutos (Braun y McIntosh, 1973; Haroutunian y Riccio, 1975). La duración de los efectos de la rotación parece depender de los índices conductuales registrados. Así, Braun y McIntosh (1973) observaron, en ratas que habían sido sometidas a rotación corporal, alteraciones posturales que solamente duraban un minuto tras la finalización de la estimulación vestibular. La supresión de la bebida, la conducta de pica o el número de defecaciones son otros de los indicios del malestar gastrointestinal producidos por la rotación corporal, que no duran más de unos minutos (Haroutunian et al, 1976; Sutton, Fox, y Daunton, 1988). La rotación también origina otro tipo de consecuencias, no relacionadas con su efecto aversivo, que pueden tener una mayor duración, tales como la analgesia (Ossenkopp et al, 1988). Así la breve duración es una característica de aquellos índices conductuales del malestar gastrointestinal inducido por rotación corporal.

Sin embargo, la duración de los efectos producidos tras la administración de agentes químicos, como LiCl, es muy difícil de controlar. Bures ha descrito, para dosis del 2% del peso corporal (p.c.) de LiCl (0.15 M), una curva de la duración de los síntomas (peristalsis, diarrea, postración y baja reactividad) que comienza alrededor de los 10 minutos para alcanzar el pico a la hora o dos horas y desaparecer al cabo de 10 horas (Bures, 1998). Por tanto, la estimulación vestibular presenta una ventaja crítica frente al empleo de agentes aversivos químicos para una aproximación psicobiológica, ya que es posible un control más preciso de sus parámetros temporales.

Por tanto, el hecho de que los efectos aversivos relevantes para la adquisición de aprendizaje aversivo gustativo no perduren tras la finalización

de la rotación adquiere especial relevancia cuando se trata de disociar las múltiples funciones que una misma estructura cerebral puede ejercer durante la adquisición de dicho aprendizaje. Cuando se utilizan agentes químicos como LiCl la duración de los efectos aversivos impide introducir intervenciones cerebrales tras el entrenamiento que afecten selectivamente a procesos asociativos y mnésicos sin que queden alterados los procesos sensoriales. Sin embargo, cuando se emplea rotación como EI es posible demostrar funciones sensoriales y asociativas independientes, llevadas a cabo por la misma estructura cerebral pero que se suceden en el tiempo. Por ello, resulta de especial interés para el estudio de las bases neurales de este aprendizaje el desarrollo de un procedimiento conductual especialmente sensible a los efectos de la rotación corporal.

Ahora bien, cuando se usa la rotación corporal para el estudio de las bases neurales del aprendizaje aversivo gustativo, el problema es la debilidad de la aversión inducida por este agente, lo que obliga a aumentar el número de ensayos o reducir la demora entre estímulos con el fin de incrementar la potencia de la aversión. Esto plantea problemas tanto de tipo teórico como práctico. Por una parte con estas manipulaciones se pueden poner en juego otros tipos de fenómenos de aprendizaje que dependan de circuitos neurales diferentes. Por ejemplo, Gallo, Arnedo, Agüero y Puerto (1991) encontraron que el área postrema (AP) era esencial para la adquisición de aprendizaje aversivo gustativo inducido por rotación cuando se introducía demora, pero que, por el contrario, la lesión de dicha estructura no interfería con el aprendizaje en condiciones de contigüidad entre el estímulo gustativo y aversivo. Por tanto, la dilación estimular puede ser clave para determinar la participación o no de ciertas estructuras en este tipo de aprendizaje. Por otra parte, el incremento en el número de ensayos y la reducción de la dilación complican o impiden la introducción de intervenciones cerebrales durante el procedimiento comportamental, ya sea por tener que aplicarlas varias veces en cada uno de los ensayos de condicionamiento, ya sea porque al eliminar la dilación, se imposibilita la introducción de procedimientos experimentales durante el intervalo.

El objetivo de este estudio fue desarrollar un procedimiento fiable que permite detectar el condicionamiento aversivo gustativo en un único ensayo incluso cuando se utilizan estímulos aversivos débiles como la rotación corporal y demora entre los estímulos.

En el primer experimento de esta investigación se estudió dicho fenómeno empleando dos estímulos gustativos con diferentes preferencias previas (café y vinagre) analizando el papel de parámetros relacionados con el orden y la necesidad de exposición de ambos estímulos antes de la prueba. En una segunda parte de este experimento (1b) se estudió el fenómeno de neofobia hacia el vinagre comparándolo con el café para aclarar los parámetros conductuales implicados en el procedimiento propuesto.

Por último en el experimento 2 se estudió la posibilidad de generalizar los resultados obtenidos con rotación corporal a otros estímulos débiles. Para ello se manipuló la dosis de un estímulo empleado convencionalmente en

condicionamiento aversivo gustativo, la inyección i.p. de LiCl, para asemejarlo a la intensidad de la rotación corporal como agente aversivo.

EXPERIMENTO 1A

En la mayoría de los experimentos que estudian el aprendizaje aversivo gustativo, se emplean pruebas de estímulo único en las que el animal sólo dispone del estímulo gustativo que previamente ha sido asociado al malestar gastrointestinal. Ahora bien, esta prueba es poco sensible para detectar aversiones débiles (como rotación) cuando se utiliza un procedimiento de privación, ya que el animal debe optar entre continuar sediento o consumir una solución ligeramente desagradable. Es cierto que algunos trabajos han demostrado aprendizaje en un solo ensayo utilizando como sabor condicionado una solución neofóbica como, por ejemplo, el vinagre (Fox y Mckenna, 1988; Sutton, Fox y Dauton, 1988) pero estos resultados han sido difíciles de replicar y además el efecto de neofobia puede confundirse con los efectos propios del condicionamiento.

El objetivo de este experimento fue demostrar la potencia de una prueba de elección para demostrar el condicionamiento aversivo gustativo con rotación en un único ensayo.

En los casos en los que se han empleado pruebas de elección utilizando rotación el animal podía escoger entre el estímulo condicionado y agua (Green y Hachlin, 1973; Haroutunian y Riccio, 1975; Ossenkopp, 1983). En este caso al dar al sujeto la posibilidad de elegir una solución no aversiva se facilita la detección de aversiones débiles. En otras ocasiones se han empleado dos sabores en una prueba de discriminación en la que sólo uno de ellos había sido asociado previamente con rotación (Gallo et al, 1991). Sin embargo, las aversiones obtenidas en estos casos han sido débiles y, en ocasiones, inconsistentes.

Por tanto, parece que el empleo de un único sabor, como la sacarina, o de sabores igualmente preferidos, como fresa y coco, no permite detectar de forma sistemática aversiones inducidas por rotación corporal en un único ensayo y con dilación estimular. Sin embargo, estudios piloto previos mostraron que el empleo de dos sabores con diferente valor hedónico, tales como café y vinagre, facilita la detección de dichas aversiones.

Para demostrar el condicionamiento aversivo gustativo inducido por rotación en este estudio analizamos los resultados obtenidos en una prueba de elección de sabores con diferentes preferencias previas: café y vinagre, en cuatro grupos. Comparamos un condicionamiento simple mediante rotación corporal (grupo C+) con la aversión adquirida mediante un condicionamiento con exposición previa al segundo sabor (grupos C+V y VC+) así como con la mera presentación de ambos estímulos sin agente aversivo (grupo CV).

MÉTODO

Sujetos. Se utilizaron 29 ratas Wistar naïve, con un peso comprendido entre 280 a 320 g. distribuidos aleatoriamente en cuatro grupos: CV (n=7), C+ (n=8), C+V (n=7) y VC+ (n=7). Los animales fueron obtenidos directamente del animalario de la Universidad de Granada. Fueron alojados en jaulas individuales de 30x15x30 cm.. Los laterales eran opacos de color negro mientras que los paneles frontales estaban realizados con metacrilato transparente con dos orificios, de 1.6 cm. de diámetro, situados a igual distancia del centro y a través de los cuáles podían introducirse buretas graduadas para la presentación de los estímulos gustativos. La posición de estas buretas, izquierda y derecha, fue balanceada a lo largo del experimento a fin de controlar el posible efecto de posición espacial del estímulo. Se mantuvieron constantes las condiciones de temperatura (24°C) y el ciclo de luz-oscuridad de 12/12 h., con luz desde las 8.30 hasta las 20.30 horas. La comida estuvo disponible ad libitum durante todo el experimento. Durante la semana de adaptación los animales fueron sometidos a un procedimiento de privación de agua de 23 horas 45 minutos, con 15 minutos para beber diariamente.

Aparatos. El aparato rotador fue construido siguiendo al de Crampton y Lucot para gatos (1985). El instrumento consistió en dos jaulas de acrílico transparente suspendidas de un eje a un metro del suelo, que giraba perpendicularmente a distintas revoluciones por minuto. Cada jaula contenía cuatro compartimentos almohadillados con corcho blanco con el fin de inmovilizar al animal y evitar su desplazamiento durante la rotación. De esta forma 8 sujetos podían ser rotados simultáneamente.

Los estímulos gustativos consistieron en una solución de café descafeinado al 0.5% (Nescafé. Nestlé. Barcelona. España) y una solución de vinagre de sidra al 3% (Louit. Córdoba. España).

Procedimiento. Las sesiones experimentales comenzaban entre las 9,00-10,00 horas. Todo el procedimiento experimental se llevaba a cabo dentro de las jaulas-hogar, a excepción del proceso de rotación corporal para el que los animales eran transportados a otra habitación donde se introducían en el aparato rotador.

Registrada la línea base tras la semana de adaptación a la privación se procedió a la fase experimental. Las cantidades de las soluciones gustativas no fueron limitadas ni durante la fase de adquisición ni durante la fase de prueba. El consumo estuvo limitado únicamente por el tiempo de exposición que en todos los casos fue de 15 minutos. Se utilizaron cuatro grupos que recibieron diferente tratamiento durante los cuatro días que duró la fase experimental (véase tabla 1). En grupo de control (grupo CV) las ratas fueron expuestas un día a café y otro a vinagre antes de la prueba de elección entre ambos. En el grupo de condicionamiento simple, grupo C+, la exposición a café iba seguida de rotación. En los otros dos grupos se expuso a la solución de vinagre el día anterior (grupo VC+) o el día posterior (grupo C+V)al

condicionamiento al café. A todos los grupos solo se les suministraba agua en los días sin tratamiento. Transcurridos los 15 minutos se registraron las cantidades consumidas de cada solución.

Tabla 1. Tabla resumen del procedimiento conductual empleado en el experimento 1a. El símbolo + representa la aplicación del EI.

Grupo	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
CV	Agua	Café	Vinagre	Café vs. Vinagre
C+	Agua	Café +	Agua	Café vs. Vinagre
VC+	Vinagre	Café +	Agua	Café vs. Vinagre
C+V	Agua	Café +	Vinagre	Café vs. Vinagre

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En todas las figuras la variable dependiente fue el porcentaje de café consumido durante la prueba de elección. En todos los análisis el criterio de significatividad fue $p < 0.05$.

En la figura 1a podemos observar las medias de los porcentajes ingeridos de café para cada uno de los grupos en el día de la prueba de elección. El alto porcentaje consumido tanto en el grupo no condicionado (grupo CV) como en el grupo de condicionamiento simple sin exposición previa al vinagre (grupo C+) señaló una alta preferencia por el café y por tanto ausencia de aversión. Sin embargo, en los grupos condicionados con exposición al vinagre se puede observar una reducción significativa del consumo de café permitiéndonos detectar la aversión adquirida independientemente del orden en que fueron presentados ambos estímulos durante la fase de adquisición.

En un análisis previo (ANOVA unifactorial) no se observaron diferencias en la línea base de agua entre los grupos ($F(3,25)=1.30$). Tampoco se encontraron diferencias entre las cantidades de café ingeridas el día de condicionamiento ($F(3,25)=0.42$) ni en la consumición de vinagre preexpuesto entre los grupos 3 y 4; es decir, la cantidad consumida no se vio alterada por el orden de presentación ($F(1,12)=0.45$).

El análisis de los resultados obtenidos en la prueba de elección mostró diferencias significativas en los porcentajes de preferencias entre los grupos ($F(3,25)=5.52$). Un análisis de comparaciones post-hoc mediante una prueba Newman-Keuls mostró que no hubo diferencias entre el grupo CV y C+ ni entre C+V y VC+. Sin embargo, el grupo CV fue diferente del grupo VC+ y del grupo C+V. Asimismo, el grupo C+ mostró un mayor porcentaje de preferencia por el café que los grupos preexpuestos VC+ y C+V.

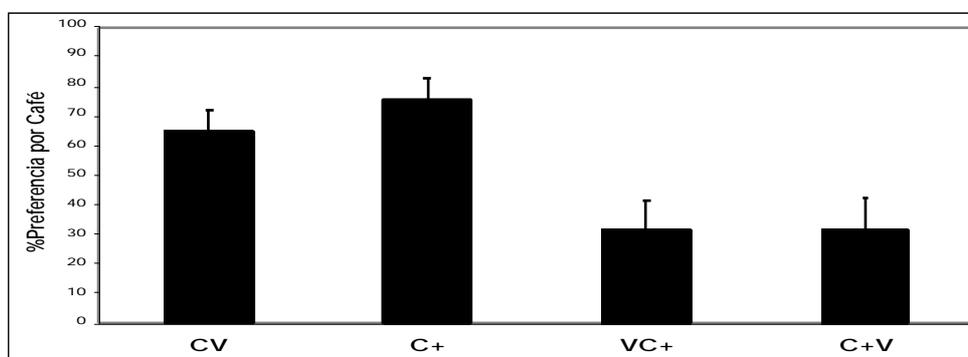


Figura 1a. Porcentajes de preferencia por el sabor condicionado (café) durante la fase de prueba. El grupo CV no fue sometido a rotación corporal. Los grupos C+, VC+ y C+V recibieron rotación corporal tras la ingesta de café el día de condicionamiento. Los grupos VC+ y C+V tuvieron una exposición previa de vinagre antes del día de la prueba. En esta y en las siguientes figuras la barra de error representa al error estándar.

Los resultados anteriores demostraron tres efectos diferentes:

1° En el grupo no condicionado (grupo CV) podemos observar una alta preferencia por el café durante la prueba de elección pese a haber sido presentados previamente ambos estímulos gustativos.

2° Estas preferencias se invirtieron cuando el estímulo más preferido fue seguido de rotación (grupo C+V y grupo VC+) resultando este cambio en las preferencias un indicador sensible para detectar la aversión adquirida siempre que hubiera habido preexposición al vinagre.

3° Estas preferencias no se vieron alteradas en un condicionamiento simple como el presentado en el grupo C+ en el que la mera asociación del café con la rotación no fue suficiente para alterar las preferencias entre café y vinagre. Cabe la posibilidad de que en este grupo el café, pese a haber sido condicionado, siguiera siendo preferido a un estímulo como el vinagre que, además de ser menos preferido, se presentó por primera vez y por tanto podría desarrollar una neofobia que en los grupos en los que había sido previamente presentado no se produjo.

Con el fin de estudiar este posible efecto diseñamos el siguiente experimento en el que se exploró la respuesta neofóbica desencadenada por cada uno de los estímulos gustativos empleados, así como el número de exposiciones necesarias para su atenuación y eliminación.

EXPERIMENTO 1B

MÉTODO

Sujetos. Se utilizaron 14 ratas Wistar naïve, con un peso aproximado de 160 g. Los animales fueron obtenidos directamente del animalario de la Universidad de Granada. Se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos: V (n=7) y C (n=7). Las condiciones de alojamiento y mantenimiento fueron idénticas a las descritas previamente.

Procedimiento. Todos los animales fueron sometidos a privación de agua de 23 horas y 45 minutos durante una semana. Transcurrido este periodo se registró la línea base de ingestión de agua. Durante el período diario de ingestión ambos grupos dispusieron durante tres días consecutivos de un único estímulo gustativo: una solución de vinagre de sidra (3%) para el grupo V y una solución de café descafeinado (0.5%) para el grupo C. Una vez transcurridos 15 minutos se registró la cantidad ingerida de cada solución. La posición de las buretas fue siempre la misma para todos los animales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1b puede observarse la representación de las cantidades medias ingeridas por ambos grupos (café para el grupo C y vinagre para el grupo V) a lo largo de los días. Durante la línea base se registró el consumo de agua para ambos grupos no observándose diferencias. Sin embargo, cuando se presentaron las soluciones gustativas se observaron diferencias en el primer día, los animales a los que se les presentaba una solución de vinagre reducían su consumo mientras que los animales a los que se les presenta una solución de café ingerían cantidades muy similares a las consumidas de agua durante la línea base. No obstante, el consumo de vinagre volvió a niveles basales de agua a partir de esta primera presentación mostrando una ausencia de neofobia en días sucesivos.

En el análisis de estos resultados se utilizó un ANOVA 2x4 (sabor x días, incluyendo el día de línea base de agua y los tres días sucesivos en los que se presentaban diferentes sabores a cada grupo). Los resultados demostraron un efecto significativo del factor sabor ($F(1,12)=11.10$) y del factor día ($F(3,36)=11.22$), así como un efecto significativo de la interacción entre ambos factores ($F(3,36)=4.35$).

En el análisis de la interacción se demostró en primer lugar que en el grupo C no aparecieron diferencias entre las cantidades ingeridas a través de los días ($F(3,18)=2.07$). Sin embargo, el grupo V mostró diferencias significativas en la cantidad ingerida en función de los días ($F(3,18)=12.36$). El análisis a posteriori de este último efecto mediante una prueba Newman-Keuls, mostró que los animales de este grupo (grupo V) ingirieron menor cantidad en el primer día en que aparece el vinagre (día 1 en la figura 1b) que el día de agua y menor también que el resto de los días en los que se les presentaba vinagre (día 2 y día 3: en la figura 1b).

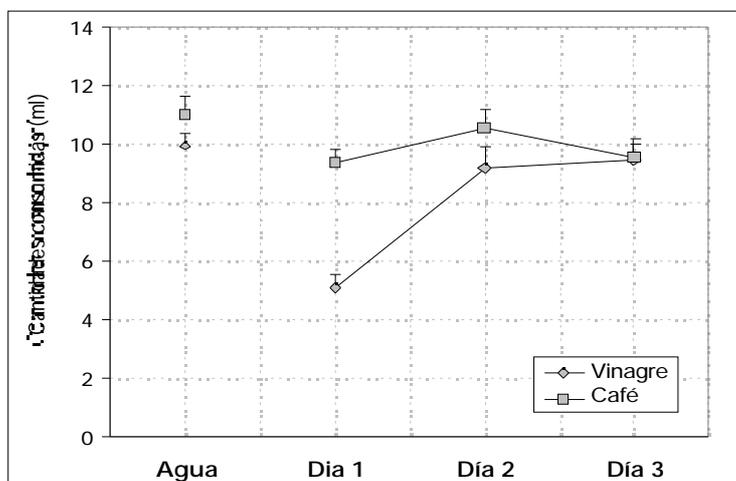


Figura 1b. Cantidades directas registradas a lo largo de los días. Agua representa la cantidad de agua ingerida durante la línea base. Durante los días 1, 2 y 3 se registraron las cantidades de vinagre (grupo V) y café (grupo C) respectivamente para cada grupo. La barra de error representa al error estándar.

Por otra parte, solo hubo diferencias entre los dos grupos en el primer día de exposición a los sabores porque el grupo de vinagre ingirió menor cantidad que el grupo de café. Ni durante el día de línea base de agua ni en el resto de los días se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos.

Estos resultados ponen de manifiesto que los animales desarrollaron neofobia hacia la solución de vinagre. Sin embargo, no fue así para la solución de café, ya que los sujetos ingirieron las mismas cantidades de agua que de café a lo largo de los días. No obstante, las diferencias encontradas entre la ingestión de agua durante la línea base y la ingestión de vinagre desaparecieron con una sola presentación de este sabor, de manera que, en las presentaciones sucesivas la ingestión de vinagre no difirió de la de agua. Podemos concluir, que la neofobia producida por un sabor nuevo como el vinagre, desaparece el segundo día de presentación.

Por tanto, cuando en el experimento anterior se presentó la prueba de elección entre café y vinagre los animales que previamente habían sido preexuestos a una solución de vinagre (grupo VC+ y C+V), no presentaron neofobia hacia este sabor permitiendo detectar la aversión adquirida al café. Solamente en el grupo C+, en el que apareció el vinagre por primera vez durante la prueba los animales desarrollaron neofobia. Esta neofobia al vinagre, sumada al hecho de que el café era un sabor preferido, hizo que en este grupo la aversión adquirida fuera difícil de detectar. Es importante resaltar, como mostró el grupo no condicionado con exposición (grupo CV) que pese a que la neofobia por el vinagre desapareciera, el café seguía siendo más preferido.

EXPERIMENTO 2A

Los resultados del primer experimento permiten proponer el procedimiento conductual empleado como una herramienta especialmente sensible para la detección de aversiones débiles inducidas por rotación corporal.

En este segundo experimento se investigó la posibilidad de que este procedimiento conductual sea eficaz siempre que se empleen estímulos aversivos débiles, sea cual sea su naturaleza. De esta forma, es posible generalizar los resultados obtenidos con rotación corporal a otro tipo de agentes débiles que puedan inducir aversiones condicionadas.

Los estímulos aversivos comúnmente empleados para inducir aprendizaje aversivo gustativo han sido estímulos de naturaleza química, siendo el más frecuentemente aplicado la inyección i.p. de cloruro de litio (LiCl) (0.15M, 2% p.c.). Para inducir una aversión de reducida magnitud empleando este estímulo, comparable a la inducida por rotación corporal, la dosis de LiCl se redujo en el primer experimento del , 2% p.c al 0.2% p.c. (manteniendo la misma molaridad, 0.15M), convirtiéndolo en un estímulo aversivo débil. En la segunda parte del experimento se utilizó una dosis algo mayor (0.15M, 0.4% p.c.) con el fin de explorar la generalidad del procedimiento.

MÉTODO

Sujetos, Materiales y Procedimiento. Se utilizaron 48 ratas Wistar naïve, con un peso aproximado de 280 a 320 g. Todas las condiciones de alojamiento, condiciones y tratamiento fueron las mismas que las usadas en el experimento 1a.. Como en ese experimento, los animales se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos: CV (n=12), C+ (n=12), C+V (n=12) y VC+ (n=12) y fueron sometidos al mismo procedimiento utilizado en el experimento 1a, excepto que la administración de rotación corporal fue sustituida por una inyección intraperitoneal de LiCl, en el día de condicionamiento al café en los grupos de condicionamiento (grupos C+, VC+ y C+V). En ese caso, transcurridos 15 minutos de la ingestión de café el día de condicionamiento, se inyectó una dosis de LiCl (0.15M, 0.2% p.c.) a todos los sujetos experimentales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 2a muestra las medias de los porcentajes de preferencia pudiendo observarse una mayor reducción de la ingesta de café en los grupos condicionados con exposición (grupos C+V y VC+) frente al grupo no condicionado (grupo CV) y al grupo de condicionamiento simple (grupo C+). Los datos confirman la utilidad del procedimiento experimental para la detección de aversiones gustativas inducidas por un EI débil diferente, ya que muestran exactamente el mismo patrón de resultados que en el experimento 1a. Como en ese mismo experimento, no hubo diferencias en la línea base de agua entre los diferentes grupos ($F(3,44)=2.48$). Tampoco se encontraron

diferencias en las cantidades ingeridas de vinagre antes o después del condicionamiento ($F(2,33)=1.32$).

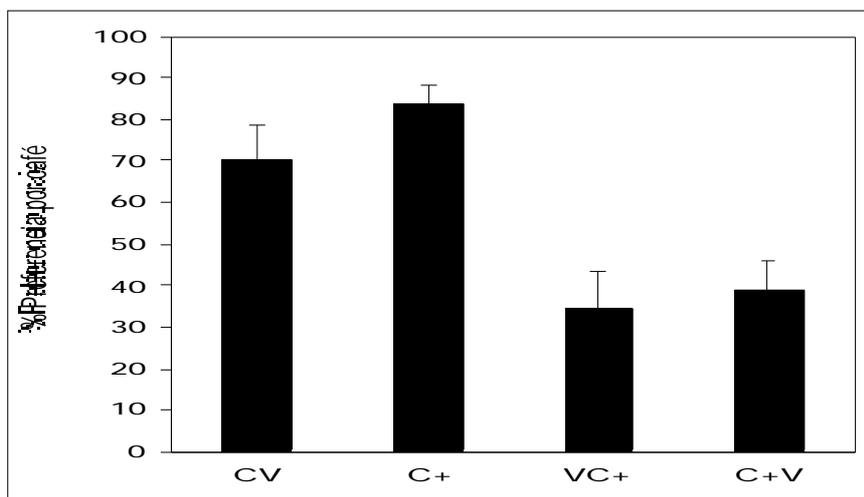


Figura 2a. Porcentajes de preferencia por el sabor condicionado (café) durante la fase de prueba. El grupo CV no fue condicionado. Los grupos C+, VC+ y C+V recibieron una inyección i.p. de LiCl (0.2%, 0.15 M) tras la ingesta de café el día de condicionamiento. Los grupos VC+ y C+V tuvieron una exposición previa de vinagre antes del día de la prueba. La barra de error representa al error estándar.

El análisis mediante ANOVA unifactorial de los porcentajes de preferencia obtenidos en la prueba de elección refleja diferencias significativas entre los grupos ($F(3,44)=10.19$).

Las comparaciones post-hoc mediante una prueba Newman-Keuls demostró que no había diferencias entre los grupos CV y C+ ni entre C+V y VC. Sin embargo, el grupo CV fue diferente del grupo VC+ y del grupo C+V y el grupo C+ mostró una preferencia por el café significativamente más alta que los grupos preexpuestos al vinagre (grupos VC+ y C+V).

Por tanto, nuevamente la solución de vinagre durante la fase de adquisición, y la consiguiente eliminación de neofobia, fue un requisito imprescindible para la detección de aversiones inducidas por agentes débiles, cualquiera que sea su naturaleza y de acuerdo con los resultados anteriores empleando rotación corporal. Estos resultados sugieren que la rotación sería un estímulo aversivo similar a una inyección de LiCl al 0.2% p.c. (0.15M).

EXPERIMENTO 2B

MÉTODO

Sujetos y Procedimiento. Se utilizaron 48 ratas Wistar naïve, con un peso aproximado entre 280 y 320 g. Los animales fueron obtenidos del animalario de la Universidad de Granada. Se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos: CV (n=12), C+ (n=12), C+V (n=12) y VC+ (n=12). Todas las condiciones fueron exactamente las mismas que en el experimento anterior salvo la dosis empleada de LiCl (0.4% p.c.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 2b representa la distribución de las medias de los porcentajes de preferencia por café. En ella podemos observar que cuando la dosis de LiCl fue mayor los animales mostraron aversiones al estímulo condicionado independientemente de la presentación previa de vinagre, de manera que los tres grupos condicionados (grupos C+, C+V y VC+) obtuvieron bajas tasas de consumo de café frente a un mayor consumo en el grupo que no fue condicionado (grupo CV).

De nuevo, no se encontraron diferencias en la línea base de ingesta de agua durante los primeros días ($F(3,44)=0.79$). Tampoco se encontraron diferencias en las exposiciones ni antes ni después del condicionamiento ($F(2,33)=2.58$).

El análisis de la preferencia por café el día de la prueba de elección, señaló diferencias significativas entre los grupos ($F(3,44)=4.33$). Un análisis de comparaciones mediante Newman-Keuls demostró que hay diferencias entre el grupo CV y los grupos VC+ y C+V respectivamente. Sin embargo, en este experimento el grupo C+ no difirió de ninguno de los otros tres grupos.

Los resultados obtenidos en este experimento permiten comprobar la validez del procedimiento empleado para detectar aversiones inducidas por EIs incluso empleando una dosis de LiCl mayor. Sin embargo, al aumentar la intensidad del agente aversivo, la magnitud de las diferencias entre el grupo C+ y los grupos VC+ y C+V no llegaron a ser significativas. Este hecho apunta a que el efecto de mejora en la detección del aprendizaje obtenido mediante las exposiciones al sabor neofóbico es dependiente de la intensidad del EI, de manera que cuando se emplean estímulos más potentes no es necesario su uso. Solo cuando el estímulo es débil, detectar la aversión adquirida dependerá de dicha preexposición.

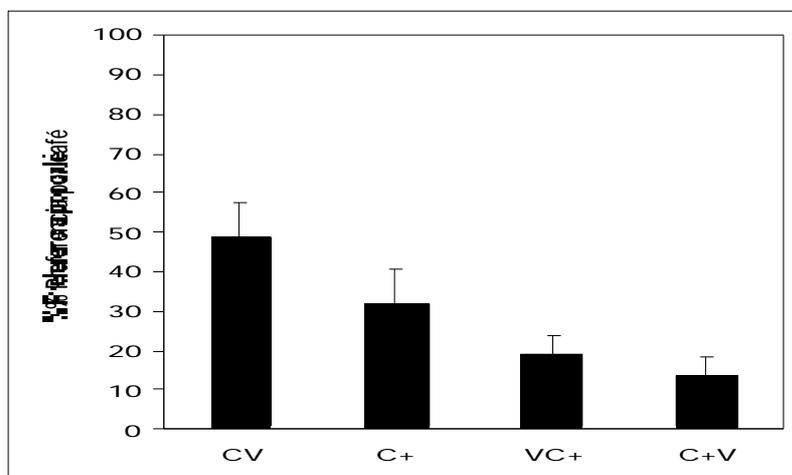


Figura 2b. Porcentajes de preferencia por el sabor condicionado (café) durante la fase de prueba. El grupo CV no fue condicionado. Los grupos C+, VC+ y C+V recibieron una inyección i.p. de LiCl (0.4%, 0.15 M) tras la ingesta de café el día de condicionamiento. Los grupos VC+ y C+V tuvieron una exposición previa de vinagre antes del día de la prueba. La barra de error corresponde al error estándar.

DISCUSIÓN GENERAL

La relevancia del presente estudio radica en la obtención de un procedimiento conductual especialmente sensible para la detección de aversiones gustativas inducidas por rotación corporal que incluye un único ensayo y demora entre los estímulos. Ambas condiciones permiten la introducción de técnicas de lesión reversible para el estudio de los mecanismos neurales implicados en este tipo de aprendizaje (Gallo, Márquez, Ballesteros y Maldonado, 1999).

Aunque los procedimientos empleados para producir aprendizaje aversivo gustativo inducido por rotación corporal han sido muy diversos, no existe un estudio sistemático acerca de los parámetros necesarios para detectar una aversión gustativa débil inducida en un solo ensayo. Estudios previos han demostrado que se puede obtener aprendizaje aversivo gustativo inducido por estimulación vestibular en un único ensayo principalmente de dos formas, bien sea disminuyendo la dilación entre los estímulos (Braun y McIntosh, 1973; Mitchell, Laycock y Stephens, 1977; Wilpizeski et al, 1985), bien sea manipulando el tipo de sabor empleado (Fox y McKenna, 1988; Gallo et al, 1991; Sutton et al, 1988).

Los resultados obtenidos y estudios previos realizados en nuestro laboratorio parecen demostrar que el empleo de dos sabores es fundamental para la detección de condicionamiento aversivo gustativo. Sin embargo,

aunque se induzcan aversiones, el empleo de dos sabores no siempre garantiza la detección de las mismas. Hasta la fecha, los resultados han mostrado ser inconsistentes.

Los resultados de esta serie experimental han demostrado que el empleo de dos sabores con diferente valor hedónico permite detectar aversiones inducidas por agentes aversivos débiles que no podrían ser detectadas usando procedimientos tradicionales. Para ello es necesario también anular el efecto de neofobia a dichos estímulos. Tal y como otros autores han encontrado (Sutton et al, 1988) basta una única presentación para que desaparezca la respuesta neofóbica al vinagre (experimento 1b). Este hecho hace que se potencien las diferencias entre el grupo control no condicionado y el grupo condicionado con exposición previa a vinagre. Los sujetos que han sido rotados pueden escoger en la prueba de elección entre una solución débilmente aversiva (café) y un estímulo gustativo cuya neofobia ha sido eliminada, por tanto, este día, el valor hedónico ha cambiado para ambos sabores. Los sujetos que no han sido condicionados tenían que escoger entre un estímulo gustativo sin consecuencias aversivas (café) y un estímulo que pese a no ser ya neofóbico, es menos preferido (vinagre). Sin embargo, cuando no se presenta previamente este último estímulo (grupo C+) durante la prueba los animales tienen que decidir entre un estímulo débilmente aversivo (café) y un estímulo que, además de ser menos preferido, es neofóbico, por lo que se ven inclinados a elegir el primer estímulo a pesar del condicionamiento.

Por tanto, el empleo de dos estímulos gustativos con diferentes preferencias previas permite eliminar el efecto techo que puede producirse en los grupos no condicionados cuando se emplean preferencias previas igualadas, y detectar el cambio en las preferencias inducido en la fase de adquisición, de forma que el estímulo gustativo preferido pasa a ser el rechazado. Así, como hemos demostrado en estudios piloto, cuando se emplean estímulos igualmente preferidos el consumo de ambos se iguala en los grupos control, obteniendo porcentajes cercanos al 50%, de manera que estos porcentajes no llegan a ser significativamente diferentes a los porcentajes obtenidos al condicionar cualesquiera de dichos estímulos con un agente aversivo débil. Por tanto, la potencia del procedimiento comportamental empleado en esta serie no radica en aumentar la magnitud de la aversión, sino en la eliminación del efecto techo.

En conjunto, los resultados obtenidos permiten proponer este procedimiento comportamental como un instrumento útil para la detección de aversiones gustativas inducidas por estimulación vestibular. La utilización de este procedimiento conductual adquiere especial relevancia para el estudio de los mecanismos neurales implicados en aprendizaje aversivo gustativo. Aunque los estímulos aversivos químicos tradicionalmente empleados pueden inducir aversiones intensas, sus parámetros temporales, en ocasiones, conllevan dificultades para la interpretación de los resultados obtenidos mediante manipulaciones neurobiológicas. La inyección i.p. de LiCl, sin duda el agente aversivo más utilizado para inducir aversiones gustativas, produce efectos que comienzan aproximadamente entre 5 y 10 minutos después de su aplicación pero que pueden durar hasta varias horas (Bures, Bermúdez-

Rattoni y Yamamoto, 1998). El hecho de no poder conocer con precisión la duración y finalización de los efectos aversivos impide extraer conclusiones definitivas acerca de si intervenciones aplicadas después del ensayo de adquisición afectan exclusivamente a procesos asociativos/mnésicos. Sin embargo, la precisión temporal de los efectos de la rotación permite establecer la finalización del procesamiento sensorial, descartando su participación (Gallo et al, 1999).

Puede constatarse en la bibliografía existente la escasez de estudios psicobiológicos en los que se ha empleado un condicionamiento aversivo gustativo inducido por rotación corporal para explorar el papel de una estructura cerebral en la participación de dicho aprendizaje (Ossenkopp, 1983b y Gallo et al, 1991). No cabe duda de que la razón de la escasez de estudios psicobiológicos sobre aversiones gustativas inducidas por rotación reside en la debilidad de las aversiones obtenidas y el fracaso en su detección de forma consistente. Uno de los requisitos exigidos para estudiar las bases neurales del aprendizaje es que el efecto obtenido sea suficientemente robusto, de forma que no sea interrumpido fácilmente por efectos inespecíficos producidos por intervenciones intracerebrales. Por ello, el procedimiento propuesto abre nuevas posibilidades en esta dirección.

Por último, la replicación de estos experimentos empleando un estímulo débil de naturaleza química apunta a la universalidad del procedimiento propuesto. El aprendizaje aversivo gustativo ha sido frecuentemente obtenido mediante LiCl asociado a un estímulo gustativo. Dosis bajas de LiCl no inducen aversiones condicionadas en un solo ensayo empleando un procedimiento convencional (Riley y Tuck, 1985). Sin embargo, una dosis reducida (0.2%) de LiCl en nuestro procedimiento produce aprendizaje aversivo gustativo en un solo ensayo (experimento 2a). Este efecto es idéntico al encontrado con rotación corporal. No obstante, cuando incrementamos la dosis de LiCl (0.4%), la exposición al sabor neofóbico comienza a perder su valor crítico (experimento 2b), y cuando se administran dosis altas se obtienen aversiones gustativas independientemente del número de estímulos gustativos o sus características hedónicas.

En resumen, se ha desarrollado un procedimiento de aprendizaje aversivo gustativo capaz de detectar efectos aversivos sutiles, independientemente de la naturaleza del agente inductor. Además, este efecto depende de la intensidad del estímulo aversivo aplicado.

El procedimiento conductual diseñado a lo largo de esta investigación representa una poderosa herramienta para el estudio de las bases neurales del aprendizaje ya que la rotación corporal permite un mayor control de los parámetros temporales y ello permite una interpretación precisa de los efectos retrógrados de la inactivación cerebral reversible aplicada durante el ensayo de adquisición en términos de los procesos específicos afectados en dicho aprendizaje (Gallo et al, 1999). Pero también se ha demostrado su utilidad en el estudio de otros fenómenos de aprendizaje como inhibición latente (Maldonado, Gallo, Márquez y Ballesteros, 1996) lo que incrementa aún más el valor de dicha técnica.

ABSTRACT

Detection of taste aversions induced by weak unconditioned stimuli like body rotation. The main aim of the present study was to develop a behavioural procedure in order to detect mild taste aversions induced by body rotation and low doses of LiCl in Wistar rats. The proposed procedure involves a choice-test between tastes with different previous preferences. Experiment 1a showed that, when decaffeinated coffee and cider vinegar are used, body-rotation induced aversions to the preferred coffee solution are evident during the choice-test only if the neophobic response to the least preferred vinegar has been eliminated by a previous preexposure. A single preexposure before the choice-test is enough to eliminate neophobia (Experiment 1b). In Experiment 2 the same procedure effectively detected mild aversions induced by i.p. injected low doses (0.15M; 0.2% b.w.) of LiCl. The relevance of the proposed procedure lies in its potential application to the psychobiological study of taste aversion learning and it is proposed as a specially sensitive behavioural tool for detecting mild aversions induced by weak unconditioned stimuli, like body rotation.

Key words: Learning of taste aversions, unconditioned stimuli, body rotation.

REFERENCES

- Aaron, M y Brizzee K.R. (1979) Motion Sickness-Induced Food aversions in the squirrel monkey. *Physiology and Behavior*, 23, 39-41.
- Bielavska, E. y Bures, J. (1994) Universality of parabrachial nucleus mediation of taste aversion learning. *Behavioral Brain Research*, 60, 35-42.
- Borison, H.L. y Borison, R. (1986) Motion sickness reflex are bypasses the Area Postrema in cats. *Experimental Neurology*, 92, 723-737.
- Braun, J.J. y McIntosh J.R.H. (1973). Learned taste aversion induced by rotational stimulation. *Physiological Psychology*, 1 (4), 301-304.
- Bures, J. (1998). *The CTA paradigm: terminology, methods, and conventions*. En Bures, J., Bermúdez-Rattoni, F. y Yamamoto, T. Conditioned Taste Aversion: Memory of a Special Kind. Oxford New York, 2, 14-25.
- Bures, J., Bermúdez-Rattoni, F. y Yamamoto, T. (1998). *Conditioned Taste Aversion*. Oxford University Press: Oxford.
- Coil, J., Rogers, R.C., García, J. y Novin, D. (1978) Conditioned taste aversion: vagal and circulatory mediation of the toxic unconditioned stimulus. *Behavioral Biology*, 24, 509-519.
- Crampton, G.H. y Lucot, J.B. (1985) A stimulator for laboratory studies of motion sickness in cats. *Aviation Space and Environmental Medicine*, 56, 462-465.
- Fox, R.A. y McKenna, S. (1988). Conditioned taste aversion induced by motion is prevented by selective vagotomy in the rat. *Behavioral and Neural Biology*, 50, 2775-284.
- Gallo, M. y Puerto, A. (1986). Efectos de la estimulación eléctrica sobre el área postrema en el aprendizaje interoceptivo. *Revista de Psicología General y Aplicada*, 41 (3), 495-503.

- Gallo, M., Arnedo, M., Agüero, A. y Puerto, A. (1991). Participation of the area postrema in conditioned taste aversion induced by body rotation. *Behavioral Brain Research*, 42, 13-23.
- Gallo, M., Márquez, S.L., Ballesteros, M.A. y Maldonado, A. (1999) Functional blockade of the parabrachial area by tetrodotoxin disrupts the acquisition of conditioned taste aversion induced by motion-sickness in rats. *Neuroscience Letters* 265, 57-60.
- García, J., Kimeldorf, D.J. y Koelling, U.A. (1955). Conditioned Taste Aversion to saccharin resulting from exposure to gamma radiation. *Science*, 122, 157-158.
- Green, L. y Hachlin, H. (1973). The effect of rotation on the learning of taste aversion. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 1 (2), 137-138.
- Haroutunian, V. y Riccio, C.D. (1975). Acquisition of rotation-induced taste aversion as a function of drinking-treatment delay. *Physiological Psychology*, 3 (3), 273-277.
- Haroutunian, V., Riccio, C.D. y Gaus, D.P. (1976). Suppression of drinking following rotational stimulation as an index of motion sickness in the rat. *Physiological Psychology*, 4 (4), 467-472.
- Lett, B.T. y Grant, V.L. (1996). Wheel running induces CTA in rats trained while hungry and thirsty. *Physiology and Behavior*, 59 (4-5), 699-702.
- Lett, B.T.; Grant, V.L. y Gaborko, L.L. (1998). Wheel running simultaneously induces CTA and facilitates feeding in non-deprived rats. *Appetite*, 31, 351-360.
- Maldonado, A., Gallo, M., Márquez, S. y Ballesteros, M.A. (1996) Los efectos de la preferencia, neofobia y preexposición en el condicionamiento de aversión al sabor en un solo ensayo. *VIII Congreso de la Sociedad Española de Psicología Comparada. Libro de Actas, Universidad de Málaga*, 115.
- Mitchell, D., Krusemark, M.L. y Hafner, E. (1977). Pica: a species relevant behavioral assay of motion sickness in the rat. *Physiology and Behavior*, 18, 125-130.
- Mitchel, D., Laycock, J.D y Stephens, W.F. (1977). Motion sickness-induced pica in the rat. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 30, 147-150.
- Nachman, M. y Hartley, P.L. (1975). Role of illness in producing learned taste aversions in rats: a comparison of several rodenticides. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 89, 1010-1018.
- Ossenkopp, K. (1983a). Area postrema lesions in rats enhance the magnitude of body rotation-induced conditioned taste aversions. *Behavioral and Neural Biology*, 38, 82-96.
- Ossenkopp, K. (1983b). Taste aversions conditioned with gamma radiation attenuation by area postrema lesions in rats. *Behavioral Brain Research*, 7, 297-305.
- Ossenkopp, K. y Giugno, L. (1990). Nicotine-induced conditioned taste aversions are enhanced in rats with lesions of the area postrema. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 36, 625-630.
- Ossenkopp, K., Macrae, L., Bettin, M.A. y Krvaliers, M. (1988). Body rotation induced analgesia in Male mice: Effects of duration and type of rotation procedure. *Brain Research Bulletin*, 21, 967-972.
- Riley, A. L. y Tuck, D.L. (1985) *Conditioned taste aversion: a bibliography*. En Braveman N.S. y Bronstein P. (Eds.) *Experimental assesment and clinical applications of Conditioned Taste Aversion*. *Annals of the New York Academy of Science*, 443: 381-437.
- Roy, A. y Brizzee, K. (1979). Motion Sickness-Induced Food Aversion in the Squirrel Monkey. *Physiology and Behavior*, 23,39-41.
- Sutton, R.L., Fox, R.A. y Daunton, N.G. (1988). Role of the area postrema in three putative measures of motion sickness in the rat. *Behavioral and Neural Biology*, 50, 133-152.

- Swank, M. W., Schafe, G. y Bersntein, I.L. (1995). c-Fos induction in response to taste stimuli previously paired with amphetamine or LiCl during taste aversion learning. *Brain Research*, 673, 251-261.
- Wilpizeski, C.R., Lowry, L.D., Eyyonni, U., Rahed, M.E. y Goldman, N. (1985). Behavioral conditioning and experimental motion-induced sickness. *American Journal of Otolaryngology*, 6 (4), 258-263.

(Recibido 26/7/00;; Aceptado: 12/3/01)