



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación

Trabajo Fin de Grado

Efecto del reforzamiento parcial en la automedicación emocional

Alumna: Jessica Carmona Canales

Tutora: Prof. Dra. Carmen Torres Bares
Dpto: Psicología

Julio, 2017

ÍNDICE

1. Resumen/abstract.....	3
2. Introducción.....	5
3. Método.....	19
3.1 Sujetos.....	19
3.2 Aparatos.....	20
3.3 Procedimiento.....	21
3.4 Análisis estadístico.....	23
4. Resultados.....	23
5. Discusión.....	26
6. Conclusiones.....	30
7. Referencias.....	31
8. Anexos.....	35

1. RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo analizar el efecto que se produce al someter a los animales a una situación de frustración mediante la reducción en la magnitud de una recompensa esperada (contraste sucesivo negativo consumatorio, CSNc). En concreto, se disminuyó el porcentaje de sacarosa que recibían los animales para analizar cómo esto afectaba al consumo posterior de alcohol. Todo ello basándose en la hipótesis de la automedicación emocional, y estudiando cómo un entrenamiento en reforzamiento parcial puede atenuar dicho efecto de automedicación. Los animales elegidos para esta investigación fueron ratas Wistar macho, las cuales primero pasaban por la prueba consumatoria (5 minutos) donde tenían acceso a una solución de sacarosa al 32% si pertenecían al grupo de reforzamiento continuo, o dicha solución y agua (dependiendo de la sesión), si eran del grupo de reforzamiento parcial, formando parte de la fase de precambio que tuvo una duración de 20 sesiones. Al comenzar la fase de postcambio que duró 10 sesiones, la solución al 32% disminuyó hasta el 4%, produciéndose la devaluación de recompensa que provocaría una situación de frustración. Después de esta prueba los sujetos eran expuestos a la prueba de preferencia (2 horas) donde tenían acceso a agua o alcohol dependiendo del grupo experimental al que perteneciesen. Se esperaba que los grupos que habían sido tenido reforzamiento continuo, al realizarse la devaluación de recompensa en la fase de postcambio, aumentaran su consumo de alcohol y fuera notablemente mayor que el del grupo de reforzamiento parcial. Los resultados indicaron que las diferencias en el consumo entre los grupos de reforzamiento continuo vs parcial, aunque fueron débiles, aparecieron cuando los animales tuvieron acceso a alcohol, pero no a agua, confirmando el fenómeno de la automedicación emocional inducida por frustración, y su atenuación tras experiencia en reforzamiento parcial.

Palabras clave: reforzamiento parcial; automedicación emocional; extinción; contraste sucesivo negativo; pérdida de recompensa; etanol; frustración; adicción.

ABSTRACT

The goal of this study was to analyze the effect of subjecting animals to a situation of frustration by decreasing the magnitude of the reward (consummatory successive negative contrast CSNc). To this goal, the concentration of a sucrose solution was reduced and the impact of this reduction on ethanol consumption was analyzed. The study was based on hypothesis of emotional self-medication, and how a training in partial reinforcement can attenuate this effect of self-medication. Male Wistar rats were exposed to a preshift phase (20 5-min sessions) in which they had access to a 32% sucrose solution (continuous reinforcement group), or to water or sucrose (depending on the session, partial reinforcement group). On postshift phase (10 sessions) the solution was downshifted from 32% to 4%. Immediately after this consummatory training, the subjects were exposed to the preference test (2 hours) where they had access to water or alcohol, depending on the experimental group. It was expected that the group that had been continuously reinforced would increase their consumption of alcohol upon the devaluation of reward in the post-shift phase, as opposed to the partial reinforcement group and to groups exposed to water. The results indicated that the differences in ethanol consumption between the continuous and partial reinforcement groups, although weak, appeared when the animals had access to alcohol, but not to water, confirming the phenomenon of the emotional self-medication induced by frustration and its attenuation by partial reinforcement training.

Keywords: Partial reinforcement; emotional self-medication; extinction; successive negative contrast; reward loss; ethanol; frustration; addiction.

2. INTRODUCCIÓN

Desde tiempo antiguos, los seres humanos han hecho uso de distintas drogas con una amplia variedad de propósitos, como tratamiento para el dolor y la locura, la búsqueda de placer o como acompañamiento en diversas formas de hechicería (Torres y Papini, 2016). Hoy en día, el uso de las sustancias psicoactivas se considera una problemática a nivel mundial, ya que cada día más personas se convierten en adictas a dichas sustancias; sin embargo, a pesar de su alta importancia aún sigue siendo un tema poco comprendido que se sigue investigando desde distintos ámbitos de la psicología.

En España, según la información obtenida gracias a la encuesta sobre alcohol y drogas en España (EDADES) realizada por el Observatorio Español de la Droga y las Toxicomanías (OEDT), en el año 2013 las drogas más consumidas fueron el alcohol (78%) y el tabaco (41%). Por otro lado, también fue notable el alto consumo de hipnóticosedantes (12%), además del cannabis (9%) y la cocaína (2%). Para el presente trabajo es relevante el consumo de alcohol, que muestra una prevalencia que se ha mantenido en niveles altos y de manera estable desde los años noventa. Se estima que el 5% de la población de entre 15 y 64 años practica un consumo de riesgo de esta sustancia. También llama la atención el consumo de hipnóticosedantes, como las benzodiacepinas y los barbitúricos. Estos ansiolíticos de prescripción médica habían sido consumidos alguna vez por el 22% de la población española de entre 15 y 64 años de edad, y por un 7% a diario. Este consumo se ha incrementado desde el año 2005, siendo en el caso de las mujeres casi el doble que el de los hombres.

¿Qué es la adicción? Se trata de un trastorno crónico recurrente que se caracteriza por varios síntomas; (a) la búsqueda compulsiva y el repetido consumo de sustancias psicoactivas, (b) la falta de control a la hora de consumir la droga, y (c) la aparición de un estado emocional negativo (abstinencia, irritabilidad, ansiedad) cuando se evita o no se tiene acceso a la droga (Koob, Arenns y LeMoal, 2014). En este sentido, la adicción se ha conceptualizado como un ciclo compuesto por tres componentes o etapas que se influyen mutuamente: consumo/intoxicación, retirada/afecto negativo, y preocupación/anticipación. Estos componentes van en aumento con el paso del tiempo e implican cambios a nivel cerebral en los sistemas de recompensa (Koob, 2013). Desde un punto de vista psiquiátrico, la adicción a las drogas tiene ciertos aspectos comunes a los trastornos del control de impulsos, ya que éstos se caracterizan por un creciente sentimiento de tensión o excitación antes de cometer el acto impulsivo, placer o alivio

en el momento de cometer el acto, y arrepentimiento o culpabilidad tras realizar el impulso (Asociación Americana de Psiquiatría, 1994).

Según el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-V, 2013), los trastornos por uso de sustancias (*Substance Use Disorders*) se diagnostican cuando la persona manifiesta durante un periodo de al menos 12 meses dos de los siguientes síntomas:

1. El individuo consume la sustancia en grandes cantidades o durante un período más largo de lo que se pensaba inicialmente.
2. El individuo desea reducir o controlar el consumo, y realiza esfuerzos inútiles para conseguirlo.
3. El individuo ocupa gran parte de su tiempo en la búsqueda, obtención y consumo de la droga, así como en la recuperación de sus efectos.
4. *Craving*, referido a un deseo intenso de consumir la droga que puede ocurrir en cualquier momento, pero que es más probable que aparezca en un contexto donde fue consumida o conseguida previamente.
5. Incumplimiento de las principales obligaciones en el trabajo, la escuela o el hogar debido al consumo de la sustancia.
6. Continuación del consumo de la sustancia a pesar de los problemas sociales o interpersonales producidos por éste, y del conocimiento de los problemas físicos o psicológicos que este consumo le causa.
7. Reducción de actividades sociales, ocupacionales o recreativas.
8. Uso de la sustancia con situaciones físicamente peligrosas.
9. Tolerancia, necesitando una dosis mayor de la sustancia para obtener el efecto que se desea.
10. Retirada/abstinencia, que aparece cuando las concentraciones de la sustancia en la sangre disminuyen en un sujeto que ha mantenido un uso continuo de la sustancia.

Es tal la gravedad de este trastorno y su impacto en la sociedad, que identificar los factores psicobiológicos que le subyacen constituye una prioridad para la investigación neurocientífica actual. En este sentido, se han desarrollado una amplia variedad de fenómenos conductuales y de procedimientos experimentales que nos ayudan a comprender mejor la psicobiología de la drogadicción y a desarrollar acciones que posibiliten su prevención y tratamiento (Ahmed, 2012).

Sabiendo en qué consiste el fenómeno adictivo, la pregunta que podemos plantearnos es la siguiente: ¿Qué es lo que conduce a una persona a consumir drogas? Numerosas investigaciones sugieren que es el valor positivo del refuerzo que se obtiene con el consumo de la sustancia adictiva lo que constituye el factor crítico que inicia el consumo. Este valor se relaciona con la actividad de las neuronas dopaminérgicas mesencefálicas que proyectan al prosencéfalo basal, formando el conocido como sistema de recompensa cerebral (Koob et al., 2014). Aunque las drogas de abuso difieren en su perfil farmacológico, todas aumentan los niveles de dopamina dentro de este circuito, particularmente en el núcleo accumbens (Wise, 1998). Así, por ejemplo, los estimulantes psicomotores (como la cocaína y la anfetamina) activan directamente a este sistema dopaminérgico mesolímbico, inhibiendo la recaptación o facilitando la liberación de dopamina, respectivamente. Los opiáceos activan a receptores de péptidos opioides presentes en el circuito, estimulándolo indirectamente mediante el bloqueo de la transmisión inhibitoria GABAérgica. Por su parte, los hipnóticosedantes alteran múltiples sistemas de neurotransmisores dentro y fuera del circuito, incluyendo el GABA, la dopamina, la serotonina, el glutamato y los péptidos opioides, entre otros. La nicotina y el tetrahidrocanabinol activan la función de la dopamina mesolímbica y posiblemente los sistemas peptídicos opioides en este circuito. En cuanto al alcohol, potencia la transmisión GABAérgica en el núcleo accumbens y en la amígdala (Koob et al, 2009)

Todos los productos alcohólicos contienen alcohol etílico (etanol), que es el ingrediente psicoactivo principal en bebidas alcohólicas. El alcohol no se une como agonista directo a los receptores en el cerebro, sino que parece estar capturado en bolsas en la membrana y modula receptores (denominados elementos receptores de etanol) para producir sus efectos en el comportamiento. El alcohol se considera un sedativo-hipnótico, pero también puede producir efectos psicoestimulantes que son atribuibles a la desinhibición. Se ha propuesto la hipótesis de que los elementos receptores de alcohol están situados en receptores conectado a receptores iónicos, tales como receptores GABA-A, glicina y glutamato. Los efectos intoxicantes del alcohol están mediados por la activación de múltiples sistemas neurotransmisores (predominantemente GABA, opiáceos y dopamina) en las áreas de origen (área tegmental ventral) y terminales (núcleo accumbens) del sistema dopaminérgico mesocorticolímbico y la amígdala extendida. El potencial de adicción del alcohol deriva en gran medida de las poderosas

neuroadaptaciones que existen dentro del sistema (mecanismos de transducción de señales) y entre los distintos sistemas (cambios en los circuitos), como los sistemas motivacionales y de estrés del cerebro (Koob y LeMoal, 2014).

Con el alcohol o etanol se consiguen consecuencias reforzantes debido a que se producen efectos agradables tras su ingesta ya que se activan los centros de refuerzo situados en el encéfalo medio. En efecto, Pautassi et al (2009) consideró que un mecanismo que resulta clave para el desarrollo y mantenimiento del consumo de esta sustancia es el refuerzo positivo que genera. Como se ha comentado anteriormente, esta sustancia de abuso produce la liberación de opioides endógenos y dopamina, además distintos autores como Ericson y Molander (2003) abogaron que también afecta a distintos neurotransmisores que están implicados en la evaluación del placer que generan las drogas. Además de incrementar estados afectivos positivos debido al refuerzo, el etanol también causa una reducción en los negativos como la disforia o la ansiedad (Wilson et al., 2004., citado en Koob, 2006). Por ello varias investigaciones sugieren que más por sus efectos reforzante, el alcohol es una sustancia adictiva debido a que es capaz de disminuir los estados negativos como el estrés o la depresión (Koob, 2006; Koob y LeMoal, 2008).

Por lo tanto, que el etanol produzca el fenómeno adictivo es provocado por ambos reforzamientos, tanto el positivo como el negativo, que aumentan la posibilidad de que dicha conducta, es decir el consumo de la droga, se repita en el futuro (Sanchis-Segura y Spanagel, 2006).

Describamos con más detalle el circuito de la recompensa. El núcleo accumbens se sitúa estratégicamente para recibir la información relevante que proviene de la amígdala y para proyectarla hacia la corteza frontal y el hipocampo, posibilitando la transformación de procesos motivacionales en actos motores mediante conexiones con el sistema motor extrapiramidal. En este sentido, se ha establecido que el núcleo accumbens es una zona clave en los efectos agudos reforzantes de las sustancias de abuso (Koob y Volkow, 2009). Este sistema se forma por dos tipos de neuronas, aquellas que se originan en la sustancia negra y que proyectan al cuerpo estriado dorsal mediante la vía nigroestriatal; y aquellas que se localizan en el área tegmental ventral y que proyectan a través de la vía mesocortical y la vía mesolímbica hacia numerosas regiones límbicas y neocorticales. En concreto, la vía mesocortical alcanza la corteza prefrontal, mientras que la mesolímbica llega hasta el núcleo accumbens y la amígdala. El núcleo accumbens

se encuentra dividido en dos regiones diferenciadas anatómica y funcionalmente: el núcleo lateral (*core*) y la cubierta medial (*shell*). El núcleo *shell* está integrado en la amígdala extendida, la cual ha sido estudiada en investigaciones recientes por ser considerada el sustrato neuroanatómico en el cuál actúan la totalidad de las sustancias adictivas. En la amígdala extendida se incluyen el núcleo central de la amígdala y del lecho de la estría terminal, así como la subregión *shell* del núcleo de accumbens previamente comentada, estando estas regiones a su vez conectadas con sistemas cerebrales como el hipocampo, el pálido ventral o el hipotálamo lateral, los cuales ejercen un papel esencial en los procesos de regulación emocional y motivacional (Koob et al, 2004).

La dopamina es un neurotransmisor que regula las respuestas producidas por las neuronas de GABA (principal neurotransmisor inhibitorio), y de glutamato (principal neurotransmisor excitatorio; Nicola y Deadwyler, 2000). De este modo, la dopamina media el valor del incentivo y el aprendizaje que se produce mediante reforzamiento (Berridge y Robinsosn, 2003). El impacto que produce el placer causado por la recompensa depende también de otros sistemas neuroquímicos con los que interactúa la dopamina, como el opioide (Kelley et al, 2002). Cuando realizamos una conducta como el consumo de drogas este circuito se activa, aumentando así la probabilidad de que esta conducta vuelva a emitirse y convirtiendo a las drogas en reforzadores positivos con capacidad para determinar nuestra conducta, afectar nuestra toma de decisiones, modificar nuestras expectativas y alterar nuestro estado emocional y motivacional.

Existen tres enfoques desde los cuales se explica el desarrollo y mantenimiento del abuso de sustancias; la alostasis hedónica, la sensibilización al incentivo, y las teorías de formación del hábito. Según los modelos teóricos que se basan en la alostasis hedónica, el consumo de sustancias adictivas produce mecanismos de compensación contrarios a los propios efectos de las drogas, lo que provoca un estado de alostasis donde el cerebro cada vez es menos sensible a la recompensa, por lo que el individuo vuelve a consumir, incrementando la dosis para compensar el estado emocional negativo que se genera ante la ausencia de la droga (Koob et al., 2004). Por otro lado, la teoría de sensibilización al incentivo trata de explicar el *craving*, conocido como el deseo por repetir el consumo y las continuas recaídas que tienen las personas adictas. Esto ocurre debido a que cuando se administra una sustancia de abuso de forma crónica, los mecanismos dopaminérgicos aumentan su respuesta produciendo un incremento en la

dopamina (Robinson y Berridge, 2001). Por último, las teorías de formación de hábito, son aquellas que entienden el fenómeno adictivo como un trastorno patológico al estar alterados ciertos mecanismos de aprendizaje y de memoria, debido al impacto emocional que causan en ellos las drogas de abuso. Por ello, se formarían hábitos desadaptativos, provocando una pérdida de control y un consumo de las sustancias adictivas de forma compulsiva (Everitt y Robbins, 2005).

Al margen de la relevancia que tienen los mecanismos de placer y refuerzo positivo implicados en la conducta adictiva, existe abundante evidencia indicativa de una estrecha relación entre experiencias de estrés y consumo de sustancias como alcohol, opiáceos y ansiolíticos. Por ejemplo, los veteranos de guerra que sufren el trastorno de estrés postraumático consumen más psicofármacos y drogas de abuso y son más propensos a experimentar una recaída después del evento estresante, que los veteranos que no han desarrollado dicho trastorno. Hallazgos similares se han descrito en casos de abuso sexual, negligencia temprana, catástrofes naturales, pérdida de un cónyuge, conflictos familiares, pobreza y dolor crónico. Estos hallazgos sugieren que el inicio y/o el mantenimiento de un trastorno por consumo de sustancia puede estar relacionado con la reducción o el alivio a corto plazo que suministran las drogas de abuso en relación con las emociones negativas generadas por estrés agudo o crónico (Torres y Papini, 2016).

Edward Khantzian fue uno de los primeros teóricos en examinar la relación entre experiencias negativas, apego y consumo de sustancias. A partir de las ideas de autorregulación y apego, en los años setenta Khantzian y David Duncan desarrollaron conjuntamente una teoría de la adicción como un proceso de automedicación, llamándolo la Hipótesis de Auto-Medicación (SMH; Khantzian, 1985). Según estos autores, la vulnerabilidad adictiva es el resultado de la exposición a las drogas, en combinación con la incapacidad de tolerar o comprender los propios sentimientos (Khantzian, 1997). Según esta hipótesis, la adicción no se relaciona con la búsqueda del placer, sino que busca la comodidad y el contacto o apego. Más tarde Khantzian amplió estas ideas para definir la adicción como un trastorno de autorregulación en la que los individuos se automedican para manejar sus problemas de autorregulación emocional, debido a que las sustancias de abuso alivian el sufrimiento psicológico y compensan un sentido alienado del yo (Khantzian, 2011). Debido a que estos individuos tienen una incapacidad para reconocer y regular sus propios sentimientos y sentido de sí mismos,

actúan como si no necesitasen relaciones interpersonales (Khantzian, 2012). Este estado afectivo negativo produce una inmensa angustia y crea una mayor dependencia de las drogas adictivas (Khantzian, 2011). La segunda hipótesis principal dentro de la SMH fue que la preferencia de drogas de un individuo se basa en sus características individuales y de la naturaleza de su sufrimiento psicológico (Khantzian, 1997). De acuerdo con esta hipótesis, Flores (2004) estudió que los fármacos específicos son elegidos por los usuarios de sustancias para tratar un deterioro particular en la regulación del afecto.

Existen varias investigaciones que confirman las observaciones clínicas de Khantzian, como el estudio de Suh et al (2008), quienes postularon que la represión emocional estaba asociada con el alcoholismo, la inquietud con la cocaína y un comportamiento negativo o de ira con el uso de heroína. Por lo tanto, la etiología del comportamiento adictivo podría comenzar con una necesidad insatisfecha que incrementa la atracción de un individuo por una sustancia en particular. Una droga puede crear la sensación de tener una base segura y, dentro de este marco; los comportamientos adictivos pueden entenderse como intentos equivocados de autorreparación (Schindler et al., 2005). El abuso de sustancias se convierte entonces en la solución y a la vez consecuencia de la incapacidad de un individuo para desarrollar y mantener apegos saludables, protegiendo eficazmente al individuo de la vulnerabilidad ante las relaciones. Padykula y Conklin (2010) abogaron por el tratamiento del abuso de sustancias a través del abordaje de los problemas y traumas de apego; argumentaron que el terapeuta debe trabajar con el cliente para desarrollar nuevos modelos de trabajo y cultivar estrategias alternativas para la autorregulación. En la misma línea, los sobrevivientes de traumas psicológicos pueden abusar de sustancias y evitar estrechas relaciones interpersonales como intentos de lidiar y manejar recuerdos negativos (MacIntosh y Johnson 2008).

Partiendo de la SMH, Torres y Papini (2016) han desarrollado recientemente la hipótesis de la automedicación emocional (ESM), que establece que la aparición, progresión y/o recaída en un trastorno por consumo de sustancia dependen del mecanismo de reforzamiento derivado de la reducción de un estado emocional aversivo o negativo. Prueba de esta propuesta teórica es la abundante existencia de estudios con animales no humanos que indican que éstos también se automedican cuando están sometidos a condiciones estresantes negativas. Así, los animales (usualmente roedores)

expuestos a estímulos que inducen estrés agudo o crónico (por ejemplo, descargas eléctricas inescapables, estrés social, natación forzada, restricción, dolor físico, etc.), muestran mayor consumo de sustancias psicoactivas cuando éstas se presentan simultáneamente o con posterioridad a estas experiencias (Spanagel et al., 2014).

Estudios recientes han relacionado con este enfoque teórico-experimental las situaciones de pérdida de recompensa, una fuente de frustración y dolor psicológico que se ha pasado por alto en los estudios sobre el estrés y la ansiedad y su relación con la conducta adictiva, a pesar de su relevancia clínica (Papini, Fuchs y Torres, 2015).

En la literatura actual se han distinguido tres tipos de dolor; físico, social y psicológico. Según Pace et al (2006), el dolor físico es una experiencia multidimensional que incorpora las consecuencias sensoriales y emocionales que siguen la administración de estímulos nociceptivos, mientras que MacDonald y Jensen-Campbell (2011) determinaron que el dolor social es provocado por los eventos de rechazo, exclusión, separación o pérdida que involucran a congéneres

Por último, nos centraremos especialmente en el dolor psicológico, que es aquel que se refiere a las consecuencias emocionales aversivas de la exposición a un evento de pérdida de recompensa, en relación con lo que se esperaba (Papini et al., 2006). Se distinguen tres tipos de eventos de recompensa: la devaluación de la recompensa (reducción), la omisión de la recompensa (eliminación completa del resultado) y la barrera de la respuesta-recompensa (obstrucción). La detección de una discrepancia negativa significativa entre las recompensas esperadas y reales que desencadenan una reacción de dolor psicológico no es un evento sensorial singular, sino una comparación entre los valores de incentivo reales o anticipados (es decir, recuperados de la memoria). La frustración, también llamada decepción (Flaherty, 1996) es un estado emocional interno inducido por la inesperada devaluación, omisión o inaccesibilidad de una recompensa. Cuando esta emoción se activa en la situación real de la devaluación u omisión de la recompensa, se llama frustración primaria, mientras que cuando la emoción es anticipada ya que se basa en estímulos condicionados, se llama frustración secundaria. Las conductas que acompañan a la frustración pueden manifestarse como un conflicto, un comportamiento agresivo, respuestas de escape, estrés, síntomas de depresión y una variedad de secuelas adicionales (Papini y Dudley, 1997).

Anteriormente, Delamater (2004) estudió el dolor psicológico en relación con el aprendizaje y los procesos cognitivos, más que en términos de emoción. En este estudio

vamos a resaltar la importancia de dos procedimientos experimentales que se emplean en el laboratorio para estudiar las situaciones de pérdida.

En primer lugar, el contraste sucesivo negativo (CSN) consiste en exponer al grupo experimental a un alto valor de recompensa, reduciéndose ésta después de un periodo de tiempo, y finalmente comparándose el rendimiento de dicho grupo con el control, el cual habrá sido expuesto siempre a la pequeña recompensa. Los animales que han sido expuestos a la devaluación de recompensa muestran una reducción transitoria en las respuestas con respecto a los controles, que no muestran cambios. El CSN ha sido tradicionalmente estudiado en modelos animales de ansiedad (Flaherty, 1996; Gray, 1987).

Hay dos procedimientos básicos para estudiar el CSN. Un procedimiento implica un comportamiento instrumental (CSNi), es decir, un comportamiento que refleje el efecto en la anticipación del evento objetivo. Elliott (1928) realizó una prueba introduciendo a dos grupos de ratas en un laberinto complejo. Un grupo aprendió rápidamente a localizar una mezcla de cereales altamente palatable, mientras que el otro aprendió a localizar una recompensa de semillas de girasol menos valiosa. Cuando los grupos demostraron una reducción sustancial de los errores, se devaluó la recompensa, cambiando los cereales por semillas de girasol en un grupo, y manteniendo el grupo que había comenzado con semillas de girasol igual. Se encontró un rápido decremento de la conducta en el primer grupo. Efectos similares han sido obtenidos al disminuir la cantidad, más que la calidad de la recompensa (Crespi, 1942).

Un procedimiento de contraste alternativo implica trabajar con el comportamiento consumatorio (cSNC). En una investigación clásica, Tinklepaugh (1928) entrenó a monos para que esperaran un plátano muy apreciado o una hoja de lechuga menos preferible, pero generalmente aceptable. Los monos podían observar al experimentador ocultando la recompensa debajo de una de las dos tazas. Se permitió que eligieran la taza después de un periodo de espera. En ciertos ensayos, el plátano se cambió al lugar de la lechuga durante el intervalo de espera y fuera de la vista del mono. Los monos se negaron a consumir la lechuga en estas pruebas, exhibiendo una reacción emocional negativa hacia el experimentador, indicativa del impacto de la devaluación realizada. Más recientemente, el cSNC se ha convertido en una fuente importante de datos en relación con la devaluación de la recompensa, gracias al trabajo sistemático

sobre su farmacología y neurobiología realizado por Flaherty y su grupo (Flaherty, 1996).

En segundo lugar, otro procedimiento experimental a destacar sería la extinción apetitiva, que implica pasar de un período de refuerzo a uno de no refuerzo. La omisión de la recompensa puede conducir a un aumento inicial de la respuesta seguido por una reducción en la misma. En la extinción apetitiva, la omisión de una recompensa puede ser una experiencia frustrante que desencadena una variedad de comportamientos, incluyendo un aumento inicial de la respuesta (la explosión o pico de extinción), agresión, agitación, respuestas alternativas a la obtención de la recompensa y comportamiento de búsqueda, entre otros (Papini y Dudley, 1997). Se han utilizado cuatro tipos de procedimientos de extinción como modelos experimentales de pérdida. En primer lugar, la extinción apetitiva del comportamiento anticipatorio adquirido ya sea bajo procedimientos de condicionamiento instrumental o consumatorio. En dicha situación, por ejemplo, las ratas expuestas a emparejamientos pavlovianos entre las presentaciones de una palanca seguidas por la entrega de alimentos, adquieren respuestas de presión de palanca que luego se extinguen cuando deja de aparecer comida. En esta situación, los primeros síntomas de extinción se caracterizan por un pico respuesta seguido de su declive (Thomas y Papini, 2001). En segundo lugar, la extinción del comportamiento consumatorio por la simple exposición a la ausencia de recompensa también ha servido de modelo para estudiar la pérdida de incentivos, especialmente en relación con los efectos de los medicamentos (Flaherty, 1996; Kamenetzky et al, 2009; Norris et al., 2008). En tercer lugar, en situaciones de escape (por ejemplo, el laberinto de agua de Morris, el laberinto de Barnes), el animal aprende a encontrar una ubicación hábil o segura, como una plataforma sumergida o una caja de escape, basado en el experimento que realizó Morris (1981) en los años 80. Estas tareas tienen un componente de refuerzo negativo, pero también tienen un componente de recompensa (el tiempo de seguridad en la plataforma). Después de que el animal haya aprendido la tarea, se pueden introducir ensayos de extinción en los que se elimina el objetivo. Las consecuencias del comportamiento de la extinción de escape se miden en términos de inmovilidad o comportamiento de búsqueda (Vargas-López et al., 2011). Por último, tradicionalmente, Daly (1974) estudió que los animales también aprenden a escapar de un lugar en el que se ha omitido una recompensa que previamente se presentaba, un fenómeno tradicionalmente llamado escape de la frustración. Estas respuestas de escape pueden

evaluarse midiendo las entradas y el tiempo pasado en la cámara de retirada (Norris et al., 2008).

El impacto de las experiencias de pérdida de recompensa en el consumo voluntario de alcohol y ansiolíticos se han investigado en varios estudios recientes realizados en la Universidad de Jaén. En uno de los estudios, los animales fueron expuestos cada día a dos tareas en tándem: una tarea de inducción diseñada para desencadenar la frustración (extinción consumatoria o instrumental), seguida de una prueba de preferencia que daba a los animales a elegir entre una solución de alcohol (al 2%) y agua. Para realizar este estudio se trabajó con cepas endogámicas, las ratas Romanas de baja (RLA-I) y alta (RHA-I) evitación, conocidas por sus diferencias extremas en reactividad emocional y sensibilidad a la frustración (Torres y Sabariego, 2014). Se realizaron dos tareas de inducción, una de extinción consumatoria y otra instrumental. La tarea consumatoria tuvo una duración de 10 días y consistía en que los animales recibían libre acceso a una solución al 22% de sacarosa y se registraba el volumen consumido. Al finalizar la fase de adquisición, comenzaron las sesiones de extinción durante 4 sesiones, donde se administró el fluido de igual manera que en la fase anterior, excepto que, en lugar de la solución de sacarosa, tenían disponible agua destilada. La variable dependiente durante el entrenamiento consumatorio fue la cantidad de sacarosa consumida (ml) por sesión. Cada sesión duró 5 minutos a partir del momento en que el animal entró en contacto con el tubo. Inmediatamente después de esta prueba, se realizaba el test de preferencia, que como ya se ha mencionado anteriormente consistía en devolver a los animales a sus jaulas-hogar donde tenían acceso a dos botellas, llenas bien de etanol al 2% o de agua, dependiendo del grupo experimental. Después de dos horas las botellas eran retiradas y se medía lo que habían consumido los animales.

En cuanto a la tarea instrumental, consistió en entrenar a las ratas para que recogieran bolitas de comida que se situaban en la meta de un laberinto recto. Primero se realizó el entrenamiento en adquisición que duró diez sesiones con 6 ensayos cada una, donde se reforzó a los animales con 12 bolitas de comida como recompensa. En la fase de extinción no recibían nada al llegar a la caja meta, donde permanecían 30 s. Una vez terminada la tarea instrumental se pasaba al test de preferencia que era igual al que se había realizado en el primer experimento consumatorio.

El hallazgo principal fue que las ratas RLA-I, las más ansiosas y reactivas a la frustración, mostraron mayor preferencia por el etanol que las ratas RHA-I, que eran las menos ansiosas, después de la retirada del reforzador, es decir, durante las sesiones de extinción. En las pruebas de preferencia realizadas sólo con agua no aparecieron cambios en el consumo después de las sesiones de extinción (Manzo, Gómez et al., 2014).

En un segundo estudio (Manzo, Donaire, Sabariego, Papini y Torres, 2015) se analizaron los efectos de la pérdida de recompensa en el consumo de etanol y del clordiazepóxido, un ansiolítico benzodiazepínico, en ratas Wistar expuestas a una prueba de CSNc. Los animales fueron expuestos a una tarea consumatoria donde se realizó una devaluación de la recompensa, pasando de tener acceso de una solución de sacarosa al 32% a una al 4%. Inmediatamente después de esta prueba, se pasaba al test de preferencia, donde los sujetos disponían de 2 botellas durante 2 h. Una de las botellas contenía 1 mg / kg de clordiazepóxido, una solución al 2% de etanol o agua, dependiendo del grupo (la segunda botella contenía agua para todos los grupos). Tres grupos adicionales realizaron la misma prueba de preferencia, pero fueron expuestos a la solución al 4% de sacarosa durante todo el entrenamiento, es decir, sin devaluar la recompensa. Las ratas mostraron la supresión de la conducta consumatoria después de la devaluación de la recompensa con respecto a los grupos controles en los que la recompensa no se había modificado. Este efecto fue acompañado por un aumento selectivo de la preferencia por clordiazepóxido y etanol. Este estudio muestra por primera vez que un ansiolítico de prescripción médica puede causar el aumento del consumo voluntario durante ciertos períodos de angustia emocional provocada por la pérdida de recompensa. Tal automedicación anti-ansiedad proporciona información sobre las primeras etapas del comportamiento adictivo (Ortega, Solano, Torres, y Papini, 2017; Torres y Papini, 2016).

Un último experimento realizado en relación con esta línea tuvo como objetivo analizar si había algún procedimiento capaz de atenuar la conducta de automedicación emocional inducida por pérdida. Manzo, Gómez et al. (2015) realizaron otro estudio con ratas consanguíneas de la cepa Romana de baja evitación (RLA-I). Se intentó en esta ocasión reducir o eliminar el efecto de ESM en los animales realizando un entrenamiento de refuerzo parcial durante la adquisición de una respuesta instrumental, de modo que las ratas se hicieran resilientes a la frustración inducida por la pérdida de recompensa.

Dividieron a los sujetos en dos grupos; el primer grupo fue expuesto a reforzamiento parcial (RP), y el segundo a reforzamiento continuo (RC) durante la fase de adquisición de la respuesta instrumental. Los animales se sometieron a dos pruebas, una de inducción donde se llevaba a cabo un entrenamiento en un laberinto recto como el descrito anteriormente (Manzo et al., 2014), y otra de preferencia (por alcohol) que se realizaba inmediatamente después. La prueba inductora comenzó con una fase de adquisición de 10 sesiones, con 6 sesiones en cada sesión. En cada ensayo el animal podía obtener una recompensa de 12 pellets si recorría un laberinto recto desde la caja de salida hasta la meta. Los grupos de RP recibieron esta recompensa sólo en la mitad de los ensayos, distribuidos pseudoaleatoriamente, mientras que los animales del grupo de RC fueron reforzados en todos los ensayos. Una vez finalizada la fase de adquisición, los animales recibieron siete sesiones de 6 ensayos de extinción, es decir iguales que los ensayos de no reforzamiento, donde no había comida en la caja. Después de estas sesiones instrumentales se realizaba la prueba de preferencia, que consistía en poner durante dos horas dos botellas de agua, o una de agua y otra de etanol al 2%, dependiendo de la condición experimental. Como era de esperar, las ratas RLA-I parcialmente reforzadas mostraron una mayor resistencia a la extinción en comparación con los animales que habían sido reforzados continuamente. Además, los animales del grupo de RP mostraron un menor consumo de etanol que las ratas de RC durante la prueba de preferencia. Los grupos de control parcial y continuo que recibieron agua durante la prueba de preferencia no mostraron diferencias. Estos resultados sugieren que la exposición a una situación de incertidumbre de recompensa típica del entrenamiento de refuerzo parcial puede reducir la ESM en ratas seleccionadas genéticamente para altos niveles de ansiedad (Manzo, Gómez et al., 2015)

¿Cómo se podrían explicar estos resultados? Amsel (1992, 1994) ha argumentado que el efecto de refuerzo parcial en la extinción se produce porque los animales entrenados en condiciones de refuerzo parcial aprenden a ser resistentes a la frustración. Él asume que durante los ensayos iniciales el animal desarrolla la expectativa de recibir una recompensa en la caja de meta del laberinto recto, siendo esta expectativa mediada por una asociación pavloviana. Una vez que el animal tiene la expectativa de recibir la recompensa, la no ocurrencia de dicho premio desencadena una respuesta emocional aversiva como la frustración. Cuando los animales experimentan repetidamente esta frustración (como ocurre en sujetos parcialmente reforzados) aprenden a esperar esa

situación de frustración o la recompensa cuando llegan a la meta establecida. Esta frustración anticipatoria induciría un estado de conflicto generado por tendencias opuestas al acercamiento y / o retirada de la meta. Finalmente, dado que la respuesta de aproximación es recompensada en algunos ensayos en ratas parcialmente reforzadas, la expectativa de recompensa y frustración debe asociarse con la respuesta instrumental. Ambos estados internos actuarían como un estímulo para que el animal haga la respuesta de aproximación, facilitando la conducta observada durante la fase de extinción. Por lo tanto, los animales que han sido entrenados en reforzamiento parcial tienden a acercarse durante más tiempo en la fase de extinción debido a un contra-condicionamiento de la frustración anticipatoria. De acuerdo con este argumento, conocido como contracondicionamiento de la frustración anticipatoria, los animales sometidos a RP se volverían persistentes ante la extinción y su respuesta emocional de frustración estaría atenuada o ausente, por lo que no sentirían la necesidad de beber etanol para la atenuar la frustración.

El presente TFG se enmarca dentro de este contexto teórico-experimental, teniendo como objetivo principal conseguir evidencia empírica en favor de la hipótesis de la automedicación emocional y de su atenuación a través del reforzamiento parcial. En concreto, su objetivo específico fue analizar en ratas Wistar si el contraste sucesivo negativo consumatorio (y la respuesta de frustración que lo acompaña) se pueden atenuar mediante un entrenamiento previo en reforzamiento parcial, y si dicho entrenamiento reduce la conducta de automedicación que se induce en este tipo de situaciones de pérdida de incentivos. Con este fin, los animales fueron expuesto a dos pruebas conductuales. La primera consistió en la devaluación del valor de la recompensa esperada (se redujo la concentración de una solución de sacarosa a la que los animales tenían acceso del 32% -fase de precambio- al 4%-fase de postcambio-). Después de cada una de las sesiones consumatorias se realizó un test de preferencia por alcohol o por agua. La mitad de los animales recibieron la sacarosa en todos los ensayos de la fase de precambio (grupos de reforzamiento continuo), mientras que la otra mitad recibió dicha solución sólo en la mitad de los ensayos (grupos de reforzamiento parcial). En la fase de postcambio todos los sujetos recibieron la solución al 4% en todas las sesiones de entrenamiento. Teniendo en cuenta la literatura centrada en este ámbito, se establecieron las siguientes hipótesis y predicciones: (1) la devaluación de la recompensa esperada conllevará una experiencia de frustración o dolor psicológico, creando un estado

emocional negativo que se traducirá en un deterioro de la conducta de consumo de la solución azucarada (Flaherty, 1996); (2) este deterioro comportamental será menor en los animales que hayan recibido reforzamiento parcial durante la fase de precambio, en relación con los animales sometidos a condiciones de reforzamiento continuo (Cuenya et al., 2012; Pellegrini et al., 2004); (2) el estado afectivo negativo inducido por la devaluación de la recompensa provocará un aumento en el consumo de alcohol, pero no de agua, durante la prueba de preferencia (Manzo et al., 2014; Manzo, Donaire et al., 2015); (3) El aumento en el consumo de etanol deberá ser más marcado en los grupos de reforzamiento continuo que en los de reforzamiento parcial (Manzo, Gómez et al., 2015).

3. MÉTODO

3.1 SUJETOS

Para la realización de este experimento se utilizaron como sujetos 32 ratas Wistar macho de 3 meses de edad, procedentes de Charles River España. Todos los sujetos fueron alojados individualmente en su jaula-hogar con agua siempre disponible, a una temperatura ambiental aproximada de 20°C, y una humedad del 50%. El ciclo de luz-oscuridad tuvo una duración de 12 horas, encendiéndose las luces a las 7:00 h y apagándose a las 19:00 h de forma gradual. Al inicio del experimento, el peso medio de los animales era de 356 gramos, con una desviación típica de 11,6 gramos. Desde el comienzo del estudio se sometió a los animales a condiciones de privación de comida, teniendo como objetivo que se mantuvieran entre el 81% y el 84% de su peso *ad libitum*, alimentándolos 30 minutos después de la sesión experimental.

Esta investigación fue realizada de acuerdo con las guías de la UE para el uso de animales en investigación (2010/63/EU) y ley española (6/2013; R.D. 53/2003): “*Ley 32/2007, del 7 de Noviembre, para el cuidado de los animales en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio; Ley 6/2013, del 11 de Junio, de modificación de la Ley 32/2007; y Real Decreto 53/2013, de 1 de Febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos*”

Todos los protocolos conductuales utilizados fueron aprobados por el comité de bioética de la Universidad de Jaén.

3.2 APARATOS

Los animales fueron pesados diariamente con una báscula digital (Baxtram, Model BS3, Girona, España). Para realizar la tarea consumatoria de contraste sucesivo negativo se utilizaron cuatro cajas de plexiglás de 30 cm x 15 cm x 30 cm, en las cuales se colocó un tubo de ensayo graduado, introducido en un agujero pequeño en la pared frontal. El tubo tenía una boquilla acoplada en su extremo, a través de la cual el animal recibía distintas concentraciones de sacarosa (32% ó 4%) o agua, dependiendo de la condición experimental y de la fase de entrenamiento (precambio vs. postcambio) en la que se encontraba.

Las soluciones de sacarosa se prepararon diariamente utilizando una balanza (Cobos, Precisa 125A, Barcelona, Spain). Para preparar las concentraciones utilizadas (32% y 4%) se usó la siguiente regla: para la solución al 32% se añadieron 229.86 gr de sacarosa a 500 ml de agua destilada, y para la solución al 4%, se utilizaron 20,83 gr de sacarosa mezclados con 500 ml de agua destilada. Ambas soluciones se prepararon con la ayuda de un agitador magnético (Nahita Magnetic Stirrer 680-9, Beriain, España).

Para medir el tiempo que duraba la sesión consumatoria (5 minutos) se utilizaron ocho cronómetros manuales (Extech, model 365510, Madrid, España), que se ponían en marcha desde el primer lametón del animal a la boquilla.

La tarea de preferencia se llevó a cabo en la propia jaula-hogar de cada animal, las cuales eran de plexiglás y contaban con unas dimensiones de 30 cm x 30 cm x 15 cm. Estaban formadas por suelo y paredes de plástico transparente, siempre lleno de serrín, y una cubierta de rejilla, que era donde se colocaban las botellas y la comida diaria del animal. Los bebederos de agua que se usaban diariamente tenían una capacidad de 500 ml, mientras que las botellas que eran utilizadas en la prueba de preferencia contaban con una capacidad de 150 ml. Se emplearon dos botellas para cada sujeto, una de las cuales se forraba de cinta aislante negra. La botella no forrada siempre contenía agua del grifo; la botella forrada contenía una solución de etanol al 2% (96%, Panreac, Castellar del Vallés, España) en la mitad de los sujetos (grupos 32C/E y 32P/E), mientras que en la otra mitad fue agua (grupos 32C/W y 32P/W). Las botellas eran pesadas diariamente utilizando una báscula (Cobos-CB-Complet Digital Scale, Barcelona, España), antes y después de la tarea de preferencia, para así medir el consumo diario de cada una de las 64 botellas presentadas a los animales.

El almacenamiento de los datos, tanto de la tarea consumatoria como de la prueba de preferencia y el peso diario de los animales, se llevó a cabo en hojas de registro, una para cada una de las distintas sesiones experimentales.

3.3 PROCEDIMIENTO

El experimento se llevó a cabo en 3 fases: habituación, precambio y postcambio.

Habituación

Esta fase tuvo una duración de 4 sesiones, donde se exponía a las ratas a la jaula hogar con dos botellas con agua durante dos horas, con el objetivo de que se familiarizaran con la prueba de preferencia posterior. Estas sesiones comenzaban pesando a los animales, preparando las botellas, pesándolas y registrando dicho peso en las hojas de registro correspondientes. Concluida la prueba, las botellas eran extraídas y pesadas de nuevo, para obtener los datos correspondientes al consumo del agua contenida en cada una de ellas. El lugar de colocación de las botellas en la jaula (izquierda o derecha) se cambiaba cada día, para así evitar efectos relacionados con preferencia por el lugar. El último día de esta fase de habituación los animales fueron expuestos a la caja consumatoria, sin el tubo graduado, durante 5 minutos. Por último, se les daba de comer los gramos de comida correspondientes para controlar su peso y se les ponía su bebedero lleno de agua.

Precambio

La segunda fase comenzó el quinto día del experimento, y tuvo una duración de 20 sesiones. Como en la fase anterior, ésta comenzaba pesando a los animales y preparando y pesando las botellas. Seguidamente, los animales fueron expuestos a la tarea consumatoria en tandas de 8 animales, todos ellos de la misma condición experimental. En dicha tarea la mitad de los animales tuvieron acceso todas las sesiones a una solución de sacarosa al 32% (grupos 32C/E y 32C/W), mientras que la otra mitad recibió esta solución en la mitad de los ensayos de forma cuasi aleatoria (grupos 32P/W y 32P/W). La secuencia utilizada en los grupos aleatorios fue la siguiente R N R R N N R N R N N R N R R N R N N R (véase Pellegrini et al., 2004). El orden de pasación de las tandas dependió de si los grupos de reforzamiento parcial (RP) iban a recibir la solución de sacarosa o no ese día. Los días en que los grupos de RP la recibían se comenzaba con las tandas de animales pertenecientes a los grupos 32C/E y 32C/W; los días en que los grupos de RP tenían acceso a agua se comenzó con las tandas

correspondientes a dichos grupos (32P/E y 32P/W), para evitar así que pudiera quedar algún resto de la solución azucarada en las buretas. Antes de comenzar la sesión todos los tubos graduados se marcaban con cinta adhesiva para poder hacer el registro de consumo posteriormente.

Concluida la prueba consumatoria, los animales eran devueltos a su jaula hogar, donde comenzaba el test de preferencia por alcohol. Dicho test consistió en colocar dos botellas en la jaula (ambas con agua –grupos 32C/W y 32P/W- o una con agua y la otra con etanol al 2% -grupos 32C/E y 32P/E), permitiendo que el animal consumiera de forma voluntaria cualquiera de ellas durante un periodo de dos horas. Concluido este período, las botellas eran retiradas, pesadas, se calculaba el consumo de cada una de ellas y se alimentaba a los animales para mantenerlos en un peso del 81-84% de su peso *ad libitum*. Al igual que durante el periodo de habituación, las botellas eran cambiadas de lugar en la jaula cada día.

Postcambio

Esta fase de postcambio tuvo una duración de 10 sesiones, durante las cuales los animales recibieron una solución de sacarosa al 4% en la prueba consumatoria (devaluación de la recompensa). El resto de procedimientos fue similar al descrito en la fase de precambio.

Tabla 1 Diseño experimental

		Prueba consumatoria		Prueba de preferencia
GRUPO	n	<i>Precambio</i>	<i>Postcambio</i>	
32C/E	8	Sacarosa 32%	Sacarosa 4%	Etanol vs Agua
32C/W	8	Sacarosa 32%	Sacarosa 4%	Agua vs Agua
32P/E	8	Sacarosa 32% o agua destilada	Sacarosa 4%	Etanol vs Agua
32P/W	8	Sacarosa 32% o agua destilada	Sacarosa 4%	Agua vs Agua

Variables dependientes

En la tarea consumatoria de devaluación de la recompensa se utilizó como variable dependiente el consumo de la solución de sacarosa en mililitros (ml). En la prueba de

preferencia se registró el consumo de etanol (o de la botella negra en los grupos de agua) también en ml.

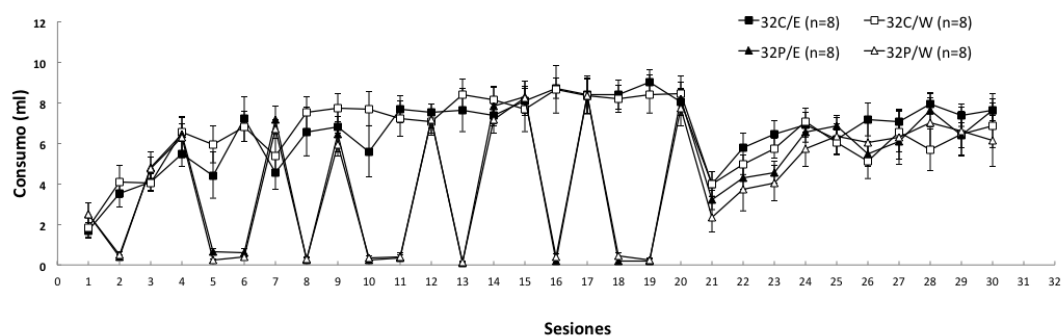
3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos correspondientes a la prueba de devaluación (consumo de sacarosa –ml-) y al test de preferencia (consumo de la botella de alcohol o de la de agua –ml-) fueron sometidos a un ANOVA con dos factores manipulados entre grupos (Droga - etanol vs. agua – y Reforzamiento –continuo vs. parcial), y un factor manipulado intra sujeto (Sesión), teniendo este factor 20 niveles en la fase de precambio y 10 en la de postcambio. Para todos los análisis realizados, se estableció un nivel de significación estadística de $p < 0.05$. Para realizar estos análisis se utilizó el programa estadístico SPSS.19.0

4. RESULTADOS

Prueba consumatoria. La Figura 1 representa los datos correspondientes al consumo de la solución de sacarosa en la prueba consumatoria, en las fases de precambio y postcambio. Como puede observarse, los animales mostraron claras diferencias en la fase de precambio dependiendo de que recibieran o no la solución de azúcar, sin que se aprecien diferencias entre los grupos de reforzamiento parcial y los de continuo en las sesiones en que ambos tuvieron acceso a la solución al 32%. Tampoco parecen observarse diferencias relevantes en función de que los grupos tuvieran acceso a agua o a etanol en la prueba de preferencia posterior. Por el contrario, cuando la solución de sacarosa fue devaluada del 32% al 4% en la fase de postcambio, parece que los grupos que recibieron previamente reforzamiento parcial tienden a mostrar un menor consumo de la solución en comparación con los grupos que recibieron reforzamiento continuo en la fase anterior, sobre todo los que recibieron agua en la prueba de preferencia.

Figura 1

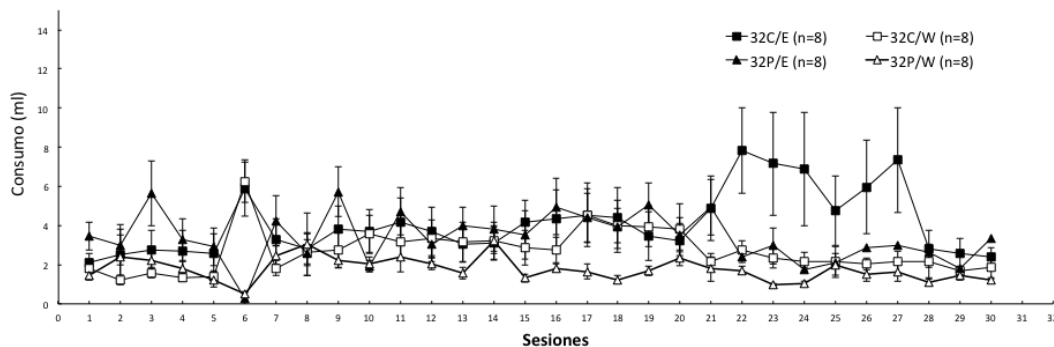


Los análisis estadísticos realizados con los datos referentes a la prueba de devaluación de recompensa indicaron lo siguiente. En primer lugar, en la fase de precambio se obtuvo un efecto significativo de las variables sesión, $F(19, 532) = 47,540$, $p < 0.0001$, y reforzamiento, $F(1, 28) = 75,817$, $p < 0.0001$, así como de la interacción entre ambas variables, $F(19, 532) = 41,893$, $p < 0.0001$. El análisis de esta interacción indicó que hubo diferencias significativas entre la condición de reforzamiento continuo y la de parcial en todas las sesiones en las que los animales de la condición parcial no recibieron la sacarosa (sesiones 2, 5, 6, 8, 10, 11, 13, 16, 18 y 19), así como en la sesión 7 (en la cual todos los animales recibieron la solución azucarada), en la que los animales sometidos a reforzamiento parcial consumieron más de la misma que los que recibían reforzamiento continuo.

Los resultados obtenidos en la fase de postcambio fueron similares, dado que de nuevo se obtuvo un efecto estadísticamente significativo de las variables sesión, $F(9, 252) = 43,134$, $p < 0.0001$, y reforzamiento, $F(1, 28) = 102,084$, $p < 0.0001$, así como de la interacción entre ambas variables, $F(9, 252) = 49,884$, $p < 0.0001$. El análisis de esta interacción indicó que los animales de la condición de reforzamiento continuo consumieron más que los de la condición de reforzamiento parcial sólo en la tercera sesión de postcambio (sesión 23), sin que en el resto de las sesiones aparecieran diferencias significativas entre ambas condiciones. Estos resultados sugieren que, aunque débil, el entrenamiento en reforzamiento parcial tuvo un efecto opuesto al esperado, dado que estos animales consumieron menos de la solución de sacarosa que los expuestos a reforzamiento continuo, al menos en una sesión de postcambio.

Prueba de preferencia. La Figura 2 muestra los resultados correspondientes a la prueba de preferencia con respecto al consumo (ml) de las botellas de etanol (grupos 32C/E y 32P/E) o de agua (grupos 32C/W y 32P/W). La inspección de esta figura parece indicar que en la fase de precambio el grupo que menos consumió fue el que recibió agua en la prueba de preferencia y reforzamiento parcial en la consumatoria, mientras que en los tres grupos restantes no parecen observarse diferencias claras con respecto al consumo de las botellas. Por el contrario, los animales que recibieron reforzamiento continuo durante la fase de precambio y acceso a etanol experimentaron un aumento considerable en el consumo de esta droga, un efecto que no parece observarse en los grupos restantes.

Figura 2



Los análisis estadísticos confirmaron parcialmente estas observaciones. En la fase de precambio aparecieron diferencias significativas con respecto a la variable sesión, $F(19, 532) = 2,289$, $p < 0.002$, así como a la interacción entre esta variable y la variable reforzamiento, $F(19, 532) = 4,881$, $p < 0.0001$. Ningún otro efecto principal ni interacción resultó ser significativo. El análisis de esta interacción mostró la existencia de diferencias entre los grupos de reforzamiento continuo y parcial en las sesiones 6 y 10, en las cuales los animales que recibieron reforzamiento continuo bebieron más de la solución presentada en la prueba de preferencia (fuera ésta agua o etanol) que los sujetos sometidos a reforzamiento parcial.

En relación con los resultados obtenidos en la fase de postcambio, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto a las variables sesión, $F(9, 252) = 2,324$, $p < 0.016$ y droga, $F(1, 28) = 6,686$, $p < 0.015$ (mayor consumo de etanol que de agua), así como en relación a la interacción sesión x reforzamiento, $F(9, 252) = 2,316$, $p < 0.016$. El análisis de esta interacción mostró la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de reforzamiento continuo vs. parcial en las sesiones 2 y 4, en las cuales los animales que recibieron reforzamiento continuo consumieron más que los sometidos a reforzamiento parcial. Si bien estos hallazgos estadísticos indican que estas diferencias entre los grupos continuo vs. parcial no dependieron de la condición de droga (etanol vs. agua), un análisis de la interacción sesión x reforzamiento x droga mostró resultados que merecen destacarse. Así, cuando se analizaron por separado los grupos de la condición de etanol (32C/E vs 32P/E), se obtuvo un efecto significativo de la variable sesión, $F(9, 126) = 1,954$, $p < 0.05$, y de la interacción sesión x reforzamiento, $F(9, 126) = 2,122$, $p < 0.032$. El análisis de esta interacción indicó que los grupos el grupo de reforzamiento continuo consumió más alcohol en la segunda sesión de postcambio que el grupo de reforzamiento parcial. Sin

embargo, cuando los grupos de agua (32C/W vs 32P/W) fueron sometidos a un análisis estadístico no apareció ninguna diferencia significativa. Estos resultados sugieren que las diferencias en el consumo entre los grupos de reforzamiento continuo vs parcial, aunque débiles, aparecieron cuando los animales tuvieron acceso a alcohol, pero no a agua, confirmando el fenómeno de la automedicación emocional inducida por frustración, y su atenuación tras experiencia en reforzamiento parcial.

5. DISCUSIÓN

El presente TFG tuvo como objetivo principal estudiar en animales no humanos el fenómeno de la automedicación emocional inducida por la devaluación de la recompensa, y cómo el entrenamiento en reforzamiento parcial puede atenuar esta conducta de consumo. Siguiendo este objetivo, los animales realizaron una prueba consumatoria donde el grupo de reforzamiento continuo estaba expuesto a una solución de sacarosa al 32% durante toda la fase de precambio, mientras que el grupo de reforzamiento parcial tenían acceso a dicha solución o a agua destilada dependiendo del día, ya que tenía un orden aleatorizado. En esta misma prueba pero en la fase de postcambio, se realizó el contraste sucesivo negativo, que consistió en devaluar la recompensa, en este caso la solución de sacarosa al 32%, que pasó a ser al 4%, de modo que se creó una situación de frustración. Inmediatamente después de finalizar el test consumatorio, los animales se pasaban a sus jaulas-hogar donde se realizaba la prueba de preferencia. Esta prueba consistía en exponer a los animales, durante dos horas, a dos botellas. Una de las botellas siempre se llenaba de agua del grifo, la otra contenía alcohol o también agua, dependiendo del grupo experimental al que perteneciese el sujeto. Se esperaba que aquellos animales que pertenecían al grupo de reforzamiento parcial consumieran menos alcohol en la prueba de preferencia una vez devaluada la recompensa, comparado con aquellos que habían tenido reforzamiento continuo. Los resultados que se obtuvieron en la prueba consumatoria muestran que hay un efecto muy débil del reforzamiento parcial, que aparece sólo en la sesión 23, yendo en dirección opuesta a lo esperado, ya que, según nuestras hipótesis, deberíamos haber visto una mayor recuperación de la devaluación en los grupos de reforzamiento parcial, es decir que hubieran aumentado su resistencia, pero los resultados muestran lo contrario, aunque solo en una sesión. En cuanto a la prueba de preferencia, se ha encontrado que los animales que recibieron reforzamiento continuo durante la fase de precambio consumieron más alcohol en la prueba de preferencia que los que recibieron

reforzamiento parcial, al menos en la segunda sesión de postcambio (22). Por lo tanto, nuestras hipótesis se han cumplido sólo parcialmente, ya que en la prueba consumatoria el resultado fue el contrario al esperado, y en la de preferencia el efecto esperado sólo apareció en una sesión de la fase de postcambio.

Comparando nuestro estudio con otros desarrollados anteriormente, se puede citar la investigación que realizaron Pellegrini et al. (2004), en la que analizaron cuáles eran los efectos del refuerzo parcial en el paradigma del CSNc, tal y como se ha hecho en nuestro estudio. En este caso, los autores presentaron 3 experimentos diseñados para probar la hipótesis de que el entrenamiento en refuerzo parcial modula la incertidumbre ante la devaluación de la recompensa que ocasiona el CSNc. El primer experimento se basó en una tarea consumatoria, donde al igual que en nuestro estudio se dividió a los sujetos en dos grupos: reforzamiento continuo vs parcial. Los animales pertenecientes a los grupos de reforzamiento continuo tuvieron acceso a un tubo que contenía una solución de sacarosa al 32% o al 4%, dependiendo del grupo experimental. Estos grupos fueron reforzados con la solución correspondiente durante los 20 días de la fase precambio. Por su parte, los grupos de reforzamiento parcial fueron expuestos a la solución de sacarosa al 32 o al 4% sólo la mitad de los días de la fase de precambio; el resto de los días recibieron agua destilada. Una vez finalizada la fase de precambio se inició la de postcambio, donde todos los animales recibieron una solución al 4% en todas las sesiones. En contraste a lo obtenido en nuestro trabajo, los resultados de este experimento apoyaron la hipótesis de que el entrenamiento en refuerzo parcial genera un comportamiento consumatorio persistente que inmuniza al animal contra los efectos supresores de la devaluación inesperada de la recompensa. En una comparación directa de los efectos de CSNc generados por el refuerzo continuo y el refuerzo parcial, este último disminuyó el efecto de CSNc durante los dos ensayos iniciales de la fase de postcambio. (Pellegrini et al., 2004). Por el contrario, en nuestro caso los animales de los grupos de reforzamiento parcial consumieron menos en una de las sesiones de la fase de postcambio.

En otro experimento similar (Gómez et al., 2008) se estudió el efecto del reforzamiento parcial sobre la extinción en las ratas RHA-I y RLA-I. La tarea empleada en este caso fue instrumental (laberinto recto), y los animales fueron reforzados de forma continua (12 *pellets*) o parcial (12 ó 0 *pellets*), dependiendo de la condición experimental. Una vez finalizada esta fase de adquisición, todos los sujetos fueron

expuestos a la omisión de recompensa o extinción. Los resultados indicaron que el efecto del reforzamiento parcial sobre la resistencia a la extinción se encontró sólo en ratas RLA-I, con una extinción más rápida en ratas RLA reforzadas continuamente que en ratas RLA con reforzamiento parcial. Por el contrario, los grupos RHA-I se extinguieron al mismo ritmo, independientemente del programa de refuerzo utilizado durante la adquisición. El efecto del reforzamiento parcial en la extinción ha sido visto como una forma paradójica de aprendizaje y la búsqueda de una respuesta a esa pregunta ha generado muchas teorías y un gran número de experimentos. Se ha demostrado que las ratas RLA son superiores a sus homólogas RHA en una variedad de tareas de memoria espacial y de trabajo, lo cual podría explicar que las ratas RLA-I muestren una extinción más rápida bajo la condición de reforzamiento continuo, aunque no puede explicar el hecho de que las ratas RLA-I y RHA-I no difieran en extinción bajo la condición de reforzamiento parcial. Por lo tanto, los procesos emocionales (frustración, contracondicionamiento) parecen ser necesarios para explicar las diferencias de cepa observadas en este estudio, de un modo similar a lo propuesto en este TFG.

Otros estudios también han utilizado el reforzamiento parcial para disminuir la respuesta emocional inducida por la reducción de la recompensa (CSN) y ver su impacto en estas cepas de animales. En un trabajo reciente (Cuenya et al., 2012) se utilizó una tarea instrumental que consistió en exponer a los animales a un laberinto recto donde, en la fase de precambio, se presentaban 12 *pellets* de comida en cada ensayo en el grupo de reforzamiento continuo, y en la mitad de éstos en el grupo de reforzamiento parcial. La devaluación de la recompensa se llevó a cabo en la fase de postcambio mediante la disminución de la comida de 12 a 2 *pellets* para todos los sujetos. Los resultados indicaron que el CSNi sólo apareció en la cepa RLA-I que había sido entrenada en reforzamiento continuo, pero no en parcial, mientras que no apareció en ninguna condición en la cepa RHA-I. Estos datos parecen apoyar de nuevo la implicación de respuestas emocionales en el CSNi, y ponen de manifiesto cómo el reforzamiento parcial atenúa dichos estados afectivos; además, sugieren la capacidad de los organismos para desarrollar resiliencia a las experiencias de pérdida se modula mediante variables genéticas (Cuenya et al., 2012).

Otros estudios han investigado cómo afecta la devaluación de una recompensa a una prueba de preferencia posterior donde el animal tiene acceso a una sustancia adictiva como es el alcohol. Dicha sustancia disminuye el estado emocional negativo que se crea

por la pérdida de recompensa, lo que viene indicado por el hecho de que los animales tienden a consumir más alcohol y otras sustancias ansiolíticas cuando son expuestos a estas experiencias de dolor psicológico. Esta evidencia empírica constituye un apoyo a la hipótesis de la automedicación emocional (Torres y Papini, 2016). El estudio realizado en este TFG corrobora la hipótesis de la ESM inducida por frustración, y su atenuación mediante un entrenamiento en reforzamiento parcial, si bien el efecto fue débil y no se obtuvo el fenómeno de la reducción del CSN mediante reforzamiento parcial. Por tanto, futuros estudios deberán corroborar su consistencia y explorarlo con más detalle. Por ejemplo, se podrían aumentar las sesiones de entrenamiento de la fase de precambio, para así conseguir un efecto más robusto relacionado con el entrenamiento en reforzamiento parcial. Aumentar la dosis de alcohol también podría ser una aproximación adecuada, dado que esto aumentaría su efecto ansiolítico. Asimismo, el hecho de que los animales tuvieran acceso a alcohol después de cada sesión sin refuerzo pudo atenuar el impacto de este ensayo de extinción, impidiendo la aparición del fenómeno. En este sentido, Pellegrini et al. (2004) hallaron que si los animales reciben un ansiolítico antes de los ensayos de no reforzamiento, el efecto del reforzamiento parcial sobre el contraste desaparece. Algo parecido pudo haber ocurrido en nuestro estudio: si bien en nuestro caso el consumo fue voluntario, el efecto ansiolítico derivado de la ingesta de alcohol pudo haber atenuado la respuesta emocional inducida por la ausencia de la solución azucarada; por tanto, en la fase de postcambio las diferencias entre los grupos de reforzamiento continuo y parcial fueron mínimas, apareciendo solo en una sesión e incluso en la dirección opuesta a la esperada. Un modo de analizar esta explicación será realizar un estudio en el que los animales reciban acceso a alcohol sólo tras los ensayos en que hayan tenido acceso a la sacarosa durante la fase de precambio; de ser cierta esta interpretación, se debería observar con más claridad el efecto del reforzamiento parcial en el contraste, de modo que los animales sometidos a reforzamiento parcial deberían mostrar más resistencia a la devaluación (es decir, menos contraste) que los expuestos a reforzamiento continuo. Bajo estas condiciones tal vez podríamos obtener evidencias más claras referentes a la conducta de automedicación emocional bajo condiciones de incertidumbre y reforzamiento parcial. En definitiva, establecer las condiciones idóneas para la obtención del fenómeno de la EMS inducida por frustración y su anulación por reforzamiento parcial constituye un tema de gran relevancia, dado que nos permitiría identificar condiciones de aprendizaje que

posibiliten la reducción de la conducta de consumo de alcohol, y que por tanto puedan ser útiles en la prevención de los trastornos adictivos relacionados con esta droga.

6. CONCLUSIONES

Una vez finalizado este trabajo, se puede concluir que investigaciones como la que hemos realizado son más necesarias cada día para poder comprender mejor qué caracteriza el comportamiento de consumo de sustancias de abuso como el alcohol, qué situaciones ambientales pueden inducirlo, y qué procedimientos se pueden desarrollar para impedir esa conducta tan nociva para el individuo. El número de personas que abusan de sustancias psicoativas aumentan cada año, lo que conlleva múltiples consecuencias negativas para la propia persona y la sociedad en general (Koob, 2004). Además, debido a la revisión teórica realizada en este trabajo, se puede concluir que la hipótesis de la automedicación emocional es una aproximación teórica que describe el consumo de sustancias que se supone son prescritas por profesionales médicos para la mejora de la salud, pero que tienen un potencial de abuso capaz de disminuir la calidad de vida de las personas que las consumen. Por todo ello, es muy importante seguir investigando en este ámbito para descubrir cómo evitar estas adicciones o disminuirlas, y así evitar que el número de personas adictas a sustancias de abuso aumente en los años venideros.

7. REFERENCIAS

- Ahmed, S.H. (2012). The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience*, 211, 107-125.
- Amsel, A. (1992). *Frustration Theory: An analysis of dispositional learning and memory*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Amsel, A. (1994). Précis of Frustration Theory: An analysis of dispositional Learning and Memory. *Psychonomic Bulletin and Review*, 1(3), 280-296.
- Becker, H.C., Lopez, M.F. y Doremus-Fitzwater, T.L. (2011). Effects of stress on alcohol drinking: a review of animal studies. *Psychopharmacology (Berlin)*, 218, 131-156.
- Berridge, K.C. y Robinson, T.E. (2003). Parsing reward. *Trends in Neuroscience*, 26, 507-513.
- Blume, A.W., Chmaling, K.B. y Marlatt, G.A. (2000). Revisiting the self-medication hypothesis from a behavioral perspective. *Cognitive and Behavioral Practice*, 7, 379-384.
- Cuenya, L., Sabariego, M., Donaire, R., Fernández-Teruel, A., Tobeña, A., Gómez, M.J., Mustaca, A. E. y Torres, C. (2012). The effect of partial reinforcement on instrumental successive negative contrast in inbred Roman High- (RHA-I) and Low- (RLA-I) Avoidance rats. *Physiology & Behavior*, 105, 1112-1116.
- Crespi, L. P. (1942). Quantitative variation in incentive and performance in the white rat. *American Journal of Psychology*, 40, 467-517.
- Everitt, B. J. y Robbins, T. W. (2005). Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nature Neuroscience*, 8, 1481-1489.
- Flaherty, C. F. (1996). *Incentive relativity*. New York: Cambridge University press.
- Gómez, M.J., De la Torres, L., Callejas-Aguileraa, J.E., Lerma-Cabrera, J.M., Rosas, J.M., Escarabajal, M.D., Agüero, A., Tobeña, A, Fernández-Teruelc, A., Torres., C. The partial reinforcement extinction effect (PREE) in female Roman high- (RHA-I) and low-avoidance (RLA-I) rats. *Behavioural Brain Research*, 194, 187–192.

- Gray, J.A. (1987). *The psychology of fear and stress*. London: Cambridge University Press.
- Kamenetzky, G. V., Mustaca, A. E. y Papini, M. R. (2008). An analysis of the anxiolytic effects of ethanol on consummatory successive negative contrast. *Avances en Psicología Latinoamericana*, 26, 135-144.
- Kelley, A.E., Bakshi, V.P., Haber, S.N., Steininger, T.L., Will, M.J., y Zhang, M. (2002). Opioid modulation of taste hedonics within the ventral striatum. *Physiology & Behavior*, 76, 365-377.
- Khantzian, E. J. (1985). The self-medication hypothesis of addictive disorders: focus on heroin and cocaine dependence. *American Journal of Psychiatry*, 142, 1259-1264.
- Khantzian, E. J. (1997). The self-medication hypothesis of substance use disorders: a reconsideration and recent applications. *Harvard Review of Psychiatry*, 4(5), 231-244.
- Khantzian, E. J. (2013). Addiction as a self-regulation disorder and the role of self-medication. *Addiction*, 108, 668-74.
- Khantzian, E. J. (2012). Reflections on Treating Addictive Disorders: A Psychodynamic Perspective. *The American Journal of Addictions*, 21, 274-279.
- Khantzian, E. J. (2011). Theoretical Frameworks and Mechanistic Aspects of Alcohol Addiction: Alcohol Addiction as a Reward Deficit Disorder. *Behavioral Neuroscience*, 13, 3-30.
- Koob, G.F., Ahmed, S.H., Boutrel, B., Chen, S.A., Kenny, P.J., Markou, A., O'Dell, L.E., Parsons, L.H. y Sanna, P.P. (2004). Neurobiological mechanisms in the transition from drug use to drug dependence. *Neuroscience & Biobehavioral Review*, 27, 739-749.
- Koob, G.F. y Volkov, N.D. (2010). *Neurocircuitry of addiction*. *Neuropsychopharmacology*, 35, 217-238.
- Koob, G.F. (2013). Negative reinforcement in drug addiction: the darkness within. *Current Opinion in Neurobiology*, 23, 559-563.
- Koob, G.F, Arenns, M.A., y LeMoal, M. (2014). *Drugs, addiction, and the brain*. New York: Elsevier.

- Koob, G.F. (2009). Neurobiological substrates for the dark side of compulsivity in addiction. *Neuropharmacology*, 56, 18-38.
- Koob, G.F. (2006). The neurobiology of addiction: a neuroadaptational view relevant for diagnosis. *Adicction*, 101, 23-30.
- Koob G.F. y Le Moal, M. (2008). Addiction and the brain antireward system. *The Annual Review of Psychology*, 59, 29–53.
- MacIntosh, H.B & Johnson, S. (2008). Emotionally Focused Therapy for Couples and Childhood Sexual Abuse Survivors. *Journal of Marital and Family Therapy*, 34, 298–315.
- Manzo, L., Donaire, R., Sabariego, M., Papini, M. R. y Torres, C. (2015). Anti-anxiety self-medication in rats: Oral consumption of chlordiazepoxide and ethanol after reward devaluation. *Behavioural Brain Research*, 278, 90-97.
- Manzo, L., Gómez, M. J., Callejas-Aguilera, J. E., Fernández-Teruel, A., Papini, M. R., y Torres, C. (2014). Anti-anxiety self-medication induced by incentive loss in rats. *Physiology & Behavior*, 123, 86-92.
- Manzo, L., Gómez, M. J., Callejas-Aguilera, J. E., Fernández-Teruel, A., Papini, M. R. y Torres, C. (2015). Partial reinforcement reduces vulnerability to anti-anxiety self-medication during appetitive extinction. *International Journal of Comparative Psychology*, 28, 1-8.
- Norris, J. N., Daniel, A. M. y Papini, M. R. (2008). Spontaneous recovery of consummatory behavior, but not of consummatory successive negative contrast. *Learning and Motivation*, 39, 296-312.
- Ortega, L. A., Solano, J. L., Torres, C., y Papini, M. R. (2017). Reward loss and addiction: Opportunities for cross-pollination. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 154, 39-52. New York: Elsevier.
- Papini, M. R. (2006). Role of surprising nonreward in associative learning. *The Japanese Journal of Animal Psychology*, 56(1), 35-54.
- Papini, M. R., Wood, M., Daniel, A. M. y Norris, J. N. (2006). Reward loss as psychological pain. *International Journal of Psychology and Psychological Therapy*, 6, 189-213.

- Papini, M.R. y Dudley, T. (1997). Consequences of surprising reward omissions. *Review of General Psychology*, 1, 175-197.
- Papini, M. R., Fuchs, P. N. y Torres, C. (2015). Behavioral neuroscience of psychological pain. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 48, 53-69.
- Pellegrini, S., Muzio, R.N., Mustaca, A. E. y Papini, M.R. (2004). Successive negative contrast after partial reinforcement in the consummatory behavior of rats. *Learning and Motivation*, 35, 303-321.
- Pellegrini, S., López, M.F. y Papini, M.R. (2008). Scaling relative incentive value: Different adjustments to incentive downshift in pigeons and rats. *Behavioural Processes*, 79, 182-188. New York: Elsevier.
- Robinson, T.E., y Berridge, K.C. (2001). Incentive-sensitization and addiction. *Addiction*, 96, 103-114.
- Sanchis-Segura, C., y Spanagel, R. (2006). Review: Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview. *Addiction Biology*, 11, 2-38.
- Schindler, A., Thomasius, R., Sack, P.M., Gemeinhardt, B., Küstner, U., Eckert, J. (2005). Attachment and substance use disorders: a review of the literature and a study in drug dependent adolescents. *Attachment & Human Development*, 7, 207-228.
- Spanagel, R., Noori, H. R. y Heilig, M. (2014). Stress and alcohol interactions: Animal studies and clinical significance. *Trends in Neuroscience*, 37, 219-227.
- Thomas, B. L. y Papini, M. R. (2001). Adrenalectomy eliminates the extinction spike in autoshaping with rats. *Physiology & Behavior*, 62, 543-547.
- Torres, C. y Papini, M. R. (2016). Emotional self-medication and addiction. En V. R. Preedy (Ed.), *Neuropathology of drug addiction and substance misuse*, 1, 71-81. New York: Elsevier.
- Torres, C. y Sabariego, M. (2014). Incentive relativity: Gene-environment interactions. *International Journal of Comparative Psychology*, 27, 446-458.
- Wise, R.A. (1998). Drug-activation of brain reward pathways. *Drug and Alcohol Dependence*, 51, 13-22.

8. ANEXOS



Figura 1: Comparación entre las soluciones de sacarosa. (A la izquierda solución al 2% y a la derecha solución al 32%).



Figura 2: Cajas de plexiglás para la prueba consumatoria.

ANEXO 1: HOJA DE REGISTRO PRUEBA CONSUMATORIA.

[illegible]

[illegible]

ANEXO 2: HOJA DE REGISTRO PRUEBA DE PREFERENCIA.

GRUPO	RATA	PRE NEGRA	PRE AGUA	HORA	POST NEGRA	POST AGUA
RP	1E					
	2E					
	3E					
	4E					
	5E					
	6E					
	7E					
	8E					
	9W					
	10W					
	11W					
	12W					
	13W					
	14W					
	15W					
	16W					
	17E					
	18E					
	19E					
	20E					
	21E					
	22E					
	23E					
	24E					
	25W					
	26W					
	27W					
	28W					
	29W					
	30W					
	31W					

	32W					
--	-----	--	--	--	--	--

ANEXO 3: PLANIFICACIÓN DEL EXPERIMENTO

Notas generales	• Las ratas serán alojadas en jaulas individuales con libre acceso a agua y privadas de alimento al 81-84% de su peso ad libitum. • Los animales serán asignados a los grupos (n=8) en función de su peso corporal, para que el promedio y la variabilidad intragrupos sea similar. • Las ratas serán pesadas cada día antes del comienzo de la sesión. • PROCEDIMIENTO DE CONTRASTE SUCESIVO NEGATIVO en cajas de consumo (con sacarosa): 1. Las ratas serán llevadas a la sala experimental en tandas de 8 (por grupos). Las tandas se desfazarán 30 minutos para que no se solapen en las pruebas. 2. Soluciones de Sacarosa: 32% = 32 gr de azúcar por cada 68 gr de agua destilada (470,58gr de azúcar en 1L) 3. El criterio de registro de tiempo es desde que la rata da la primera lametada a la boquilla y empieza a beber. SE REGISTRA LA CANTIDAD CONSUMIDA. NO OLVIDAR QUE AL EMPEZAR LA SESIÓN LOS TUBOS DEBEN ESTAR MARCADOS CON CINTA ADHESIVA PARA PODER HACER EL REGISTRO DE CONSUMO. 4. Si algún animal no consume nada al cabo de 8 minutos, se saca de la caja, y se le anota 0 en la hoja de registro: el primer día se le puede colocar con un algodón algo de la solución alrededor del agujero por el que asoma la pipeta 5. El tiempo para consumo (desde la primera lametada) es de 5 minutos 6. El orden de pasación de las tandas dependerá de si los grupos de reforzamiento parcial (RP) tienen o no solución de azúcar. ○ Los días que los grupos de RP tengan solución de azúcar, se empezará por los grupos de reforzamiento continuo (RC). ○ Los días que LOS GRUPOS DE RP NO TENGAN SOLUCIÓN DE AZÚCAR, se empezará con ellos, para evitar que queden restos de la solución azucarada en las buretas. En estos días, sólo se pondrá agua destilada en los tubos.
----------------------------	---

	7. LA SECUENCIA DE REFORZAMIENTO PARCIAL ES LA SIGUIENTE: R N R R N N R N R N N R N R R N R N N R (Pellegrini, et al., 2004. <i>Learning and Motivation</i>, 35(4), 303-321). • PROCEDIMIENTO DE PRUEBA DE PREFERENCIA. Las soluciones de CDP y de alcohol se prepararán diariamente mezclando la cantidad de agua del grifo y de alcohol correspondiente. Los animales del grupo de alcohol (E/W) recibirán una dosis del 2% (= 10.41 ml de etanol en 500mL de agua $c_i \cdot v_i = c_f \cdot v_f$). La habituación a la prueba de preferencia durará 4 días y en la misma se colocarán 2 botellas de agua en la jaula hogar del animal <u>durante dos horas</u>. La habituación se hará durante el proceso de privación de los animales a la comida. Esta privación comenzará tres días antes de la habituación (para que dure 7 días). Las ratas del grupo agua (W/W) recibirán solamente agua del grifo. 1. Las ratas del grupo de E/W serán marcadas con rotulador rojo. Las ratas del grupo W/W serán marcadas con rotulador azul. Se marcará el rabo y las cajas. 2. Las botellas son numeradas con el número de cada animal, marcando en rojo la botella que contiene el alcohol, y en blanco la botella que contiene agua. Las botellas deberán ser forradas de negro para proteger la solución de la luz. Para todos los grupos, habrá una botella forrada (E, W) y otra no (W). 3. La colocación de las botellas en la jaula hogar se cambiará diariamente para evitar preferencia por el lugar (también durante la habituación). Se tomarán diariamente medidas del peso del animal e ingesta de las dos botellas
Día 1: Habituación 2-02-17	Se prepararán las dos botellas con agua, se pesan, se retira la botella grande y se colocan en la jaula hogar de todos los animales durante dos horas. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión, mientras se pesa el animal en la otra balanza. Se anota el peso de la botella y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA

Día 2 Habitación 3-02-17	Igual que el día anterior. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA
Día 3 Habitación 4-02-17	Igual que el día anterior. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA
Día 4 Habitación 5-02-17	Igual que el día anterior. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA . Empieza la habituación a la caja de consumo. Se deja al animal 5 minutos en la caja consumatoria sin darle ninguna bebida
Precambio 1 6-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RC 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum

Precambio 2 7-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo en primer lugar con agua destilada y luego se llena con la solución de azúcar para los grupos de RC. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RP. ENSAYO NO REFORZADO PARA EL RP 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 3 8-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RC 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 4 9-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RC

	2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 5 10-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo en primer lugar con agua destilada y luego se llena con la solución de azúcar para los grupos de RC. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RP. ENSAYO NO REFORZADO PARA EL RP 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 6 11-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo en primer lugar con agua destilada y luego se llena con la solución de azúcar para los grupos de RC. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RP. ENSAYO NO REFORZADO PARA EL RP 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua,

	se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 7 12-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RC 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 8 13-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo en primer lugar con agua destilada y luego se llena con la solución de azúcar para los grupos de RC. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RP. ENSAYO NO REFORZADO PARA EL RP 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA

	Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 9 14-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RC 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 10 15-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo en primer lugar con agua destilada y luego se llena con la solución de azúcar para los grupos de RC. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RP. ENSAYO NO REFORZADO PARA EL RP 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum

Precambio 11 16-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo en primer lugar con agua destilada y luego se llena con la solución de azúcar para los grupos de RC. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RP. ENSAYO NO REFORZADO PARA EL RP 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 82%-85% de su peso ad libitum
Precambio 12 17-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RC 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 13 18-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo en primer lugar con agua destilada y luego se llena con la solución de azúcar para los grupos de RC. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RP. ENSAYO NO REFORZADO PARA EL RP

	2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 82%-85% de su peso ad libitum.
Precambio 14 19-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RC 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 15 20-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RC 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua,

	se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 16 21-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo en primer lugar con agua destilada y luego se llena con la solución de azúcar para los grupos de RC. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RP. ENSAYO NO REFORZADO PARA EL RP 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 17 22-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RC 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA

	Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 18 23-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo en primer lugar con agua destilada y luego se llena con la solución de azúcar para los grupos de RC. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RP. ENSAYO NO REFORZADO PARA EL RP 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Precambio 19 24-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo en primer lugar con agua destilada y luego se llena con la solución de azúcar para los grupos de RC. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RP. ENSAYO NO REFORZADO PARA EL RP 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum

Precambio 20 25-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. Comienzo con RC 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución de alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 81%-84% de su peso ad libitum
Postcambio 1 26-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar DEL 4% y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 82%-85% de su peso ad libitum
Postcambio 2 27-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar DEL 4% y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA

	Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 82%-85% de su peso ad libitum
Postcambio 3 28-02-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar DEL 4% y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 82%-85% de su peso ad libitum
Postcmbio 4 1-03-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar DEL 4% y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 82%-85% de su peso ad libitum
Postcambio 5 2-03-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar DEL 4% y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA IZQUIERDA

	Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 82%-85% de su peso ad libitum
Postcambio 6 3-03-17	1. Prueba de CSN. Se preparan la solución de azúcar DEL 4% y se llena el tubo. Se lleva al animal y se coloca en la caja de consumatorio. 5 minutos desde la primera lametada. 2. Prueba de preferencia. Se prepara la solución de Alcohol (2%). La botella roja contendrá la solución alcohol. La blanca continuará con agua. Se cambia el orden de las botellas con respecto al día anterior. Tras dos horas, se retiran de cada animal las dos botellas de agua, se pesan ambas en la balanza de precisión. Se anota el peso y se resta del peso inicial de las botellas para calcular el consumo. BOTELLA NEGRA A LA DERECHA Al terminar la sesión, se coloca la botella de agua grande y se limpian las botellas pequeñas para el día siguiente. Se colocan en la jaula los pellets correspondientes para mantener al animal en torno al 82%-85% de su peso ad libitum

ANEXO 4: CALENDARIO EXPERIMENTACIÓN

LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	SÁBADO	DOMINGO
30 PRIVACIÓN 1	31 PRVACIÓN 2	1 PRIVACIÓN 3	2 PRIVACIÓN 4 HAB.BOT.1	3 PRIVACIÓN 5 HAB.BOT.2	4 PRIVACIÓN 6 HAB.BOT.3	5 PRIVACIÓN 7 HAB.BOT.4 HAB.CAJA CONS
6 PRECAMBIO 1	7 PRECAMBIO 2	8 PRECAMBIO 3	9 PRECAMBIO 4	10 PRECAMBIO 5	11 PRECAMBIO 6	12 PRECAMBIO 7
13 PRECAMBIO 8	14 PRECAMBIO 9	15 PRECAMBIO 10	16 PRECAMBIO 11	17 PRECAMBIO 12	18 PRECAMBIO 13	19 PRECAMBIO 14
20 PRECAMBIO 15	21 PRECAMBIO 16	22 PRECAMBIO 17	23 PRECAMBIO 18	24 PRECAMBIO 19	25 PRECAMBIO 20	26 POSTCAMBIO 1
27 POSTCAMBIO 2	28 POSTCAMBIO 3	1 POSTCAMBIO 4	2 POSTCAMBIO 5	3 POSTCAMBIO 6	4	5
6	7	8	9	10		

 ENSAYO REFORZADO PARA EL GRUPO DE REFORZAMIENTO PARCIAL. SE COMIENZA POR EL GRUPO DE REF. CONTINUO

 ENSAYO NO REFORZADO PARA EL GRUPO DE REFORZAMIENTO PARCIAL. SE COMIENZA POR EL GRUPO DE REF. PARCIAL