

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA



FACULTAD DE PSICOLOGÍA



Trabajo Fin de Grado en Psicología

Convocatoria Julio 2017

**Déficit en control inhibitorio, activación inmune y estrés: estudio con
modelos animales**

**Deficit in inhibitory control, immune activation and stress: study with
animal models**

Autora: Clara M^a Rodríguez Alfaro

Tutora: Margarita Moreno Montoya

Cotutor: Santiago Mora Parada

ÍNDICE

Resumen	4
Abstract	4
1. Introducción	6
1.1. Hipótesis y objetivos.....	9
2. Materiales y Método	10
2.1. Animales.....	10
2.2. Aparatos.....	10
2.2.1. Activación inmune.....	10
2.2.1.1. Sustancias.....	10
2.2.2. Batería de observación funcional.....	10
2.2.3. Protocolo de estrés.....	11
2.2.4. 5-CSRT.....	11
2.2.4.1. Cajas operantes de Skinner.....	11
2.2.5. Ordenador.....	11
2.2.6. Prueba de Natación forzada.....	12
2.3. Diseño experimental.....	12
2.4. Procedimiento.....	13
2.4.1. Exposición a LPS.....	13
2.4.2. Batería de observación funcional.....	13
2.4.3. Exposición a estresores.....	14
2.4.4. Evaluación conductual.....	14
2.4.4.1. Tarea 5-CSRT. Línea Base.....	14
2.4.4.2. Prueba de Natación forzada.....	15

3. Resultados	16
3.1. Batería de Observación Funcional.....	16
3.2. Tarea 5-CSRT. Línea Base.....	18
3.3. Prueba de Natación forzada.....	20
3.4. Tarea 5-CSRT.....	21
4. Discusión	22
5. Conclusiones	24
6. Referencias	26

RESUMEN

La impulsividad y la compulsividad, definidas como déficit de control inhibitorio, están recogidas como unos de los síntomas principales en diferentes psicopatologías por el DSM-V. El objetivo de este trabajo es estudiar si la activación temprana del sistema inmune y la exposición a estresores leves durante la adolescencia podría inducir un déficit en el control inhibitorio en modelos animales. Para su realización se ha utilizado una muestra de 48 ratas wistar macho divididas en cuatro condiciones experimentales: SALINO-CONTROL, SALINO-ESTRÉS, LPS-CONTROL Y LPS-ESTRÉS. Entre los días postnatales 26 y 29 (PD26-PD29) se llevó a cabo la exposición intraperitoneal (i.p.) a lipopolisacárido (LPS) de E-Coli (Sigma). Tras esto, entre PD35 y PD41 se expusieron a un protocolo de estrés leve (4 estresores en días alternos). La muestra se dejó crecer hasta llegar al estado de rata adulta, día 90. Llegado este momento, se comenzó a evaluar el rendimiento en la prueba 5-choice serial reaction time (5CSRT), prueba de atención sostenida que, además, permite evaluar respuestas prematuras (impulsivas) y perseverativas (compulsivas), por lo que también da información sobre control inhibitorio. También fueron expuestas y evaluadas en natación forzada, con una sesión inmediatamente posterior de 5-CSRT. Los resultados muestran una mejor ejecución tras la sesión de natación forzada para los grupos expuestos a estrés, independientemente del tratamiento. El presente trabajo forma parte de la colaboración en prácticas en el desarrollo de una tesis doctoral.

Palabras clave: Control inhibitorio, estrés, LPS, activación inmune, 5-CSRT, natación forzada

ABSTRACT

Impulsivity and compulsivity, defined as inhibitory control deficits, are recorded as one of the main symptoms in different psychopathologies by DSM-V. The aim of this study is to study whether early activation of the immune system and exposure to mild stressors during adolescence may induce a deficit in inhibitory control in animal models. A sample of 48 male Wistar rats divided into four experimental conditions were used: SALINO-CONTROL, SALINO-ESTRÉS, LPS-CONTROL and LPS-ESTRÉS. Between postnatal days 26 and 29 (PD26-PD29), intraperitoneal (i.p.) exposure to E-Coli lipopolysaccharide (LPS) (Sigma) was performed. After this, between PD35 and PD41 they were exposed to a mild stress protocol (4 alternating day stressors). The sample was allowed to grow until reaching the adult rat state, day 90. At this point, performance was evaluated in the 5-choice

serial reaction time test (5CSRT), a test of sustained attention that also allows the evaluation of responses Premature (impulsive) and perseverative (compulsive), so it also gives information about inhibitory control. They were also exposed and evaluated in forced swimming, with an immediately subsequent session of 5-CSRT. The results show a better performance after the forced swimming session for the groups exposed to stress, independently of the treatment. The present work is part of the collaboration in practices in the development of a doctoral thesis.

Key words: Inhibitory control, stress, LPS, immune activation, 5-CSRT, forced swimming

1. Introducción

El control inhibitorio es una habilidad cognitiva que forma parte de las funciones ejecutivas superiores. Esta función es aquella que dota de autorregulación o capacidad para finalizar y superar una tarea ya iniciada. Para la consecución de metas u objetivos es necesaria la capacidad de inhibición, y mediante la atención y la razón, emprender con otra respuesta o conducta (Bari y Robbins, 2013).

El concepto de inhibición, aunque aparece por primera vez dentro de la literatura científica en el siglo XIX como un mecanismo por el cual se controlan las pasiones y los impulsos, utilizado para explicar algunos procesos psicológicos (Smith, 1992), ya desde el siglo IV a.C. autores como Platón con la alegoría sobre el alma humana a través del *Mito del carro alado* (Platón, 2014) o Descartes cuando hablaba de la voluntad en el tratado de *Las pasiones del alma* (Descartes, 1989) ya esclarecían unas primeras ideas que servirían de base para el futuro desarrollo del concepto.

Posteriormente, tratando de dar una definición dentro de un marco más empírico, Franz Joseph Gall propuso un modelo jerárquico de las facultades mentales, explicando como las facultades inferiores están sometidas a facultades superiores (Gall, 1835). Este modelo, aunque sin hacer una referencia explícita al concepto de inhibición como mecanismo de control de unas facultades a otras, es bastante similar a las conceptualizaciones actuales, sin embargo, hasta llegar a la idea actual, son múltiples autores los que han escrito sobre el tema desde diferentes perspectivas, algunos de ellos bastante influyentes dentro del campo de la psicología como Pavlov (1927) en su trabajo sobre los reflejos condicionados, Freud (1959) en sus teorías psicoanalíticas o Skinner (1953)

La ausencia de control inhibitorio se traduce en conductas impulsivas y compulsivas, pudiendo operativizarse las primeras como respuestas prematuras y las segundas como respuestas persistentes o perseverativas, ambas indeseables, carentes de funcionalidad y con desafortunadas consecuencias (Dalley, Everitt y Robbins, 2011). El déficit o disfuncionalidad del control inhibitorio es una característica presente en múltiples trastornos tipificados por el DSM-V, como el trastorno obsesivo-compulsivo (TOC), el consumo de sustancias nocivas, la esquizofrenia y trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH) (Fernando y Robbins, 2011; Skodol y Oldham, 1996). Antiguamente, se entendía que las conductas impulsivas y compulsivas conformaban los extremos de una misma dimensión conductual (Oldham, Hollander y Skodol, 1996), sin embargo, se ha podido comprobar en las consultas

clínicas, que existe concurrencia de ambas conductas, dando lugar a un espectro dentro de un mismo trastorno. Por esta razón que dos personas sean diagnosticadas con el mismo trastorno no implica que su comportamiento sea similar, y, por ende, tampoco su tratamiento.

Una vez señalado el déficit control inhibitorio como responsable de conductas impulsivas y compulsivas características en múltiples trastornos diversos autores han procedido a investigar para poder determinar las causas que originan el déficit en esta función ejecutiva. Una de las hipótesis con más relevancia es la de la inmunoactivación perinatal. Según esta hipótesis existe una relación entre la activación inmune durante el periodo perinatal y el posterior desarrollo de patrones de conducta impulsivos-compulsivos características de los trastornos mencionados anteriormente. Es debido a que el feto se encuentra en una etapa de desarrollo neural crítica, dada la gran plasticidad neuronal, y la activación inmune, por infección vírica o bacteriana, provoca cambios en el cerebro que deriva en una vulnerabilidad neuropsicológica a padecer estos síntomas (Benros et al., 2014). Por lo tanto, existen factores infecciosos e inmunológicos que están implicados en el posterior desarrollo de patologías neuropsiquiátricas infantiles (Gordon, 2009; Murphy et al, 2006). Una hipótesis sobre inmunoactivación señala que la infección infantil por estreptococo del grupo A (GAS), que provoca la faringo-amigdalitis, conlleva el desarrollo de Corea de Sydenham (Stollerman, 1997), enfermedad caracterizada por movimientos involuntarios y trastornos neuropsiquiátricos, en los que se encuentran conductas impulsivas-compulsivas (Marques-Dias et al, 1997; Swedo et al, 1987). Todas las enfermedades neuropsiquiátricas infantiles desarrolladas tras sufrir una exposición al estreptococo del grupo A (GAS), y, que guardan relación con síntomas impulsivo-compulsivos, han sido clasificados bajo el nombre de PANDAS (trastorno autoinmune pediátrico asociado a infecciones estreptocócicas, siglas en inglés) (Snider y Swedo, 2004). El desarrollo de otras enfermedades como Tourette (Leckman et al, 1997), Trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) (Husby et al., 1977; Swedo et al., 1998; Peterson et al., 2000; Muller et al., 2001) y autismo (Hollander et al., 1999; Margutti et al., 2006) también han sido relacionadas con infecciones bacterianas. Un estudio con humanos realizado sobre una gran población asoció nacer en invierno con el desarrollo de esquizofrenia (Zornberg, Buka, Tsuang, 2000). Diversos autores, entre ellos Brimberg et al. (2012) y Hoffman et al. (2004), han elaborado propuestas con modelos animales donde replican los efectos de inmunoactivación temprana. Siguiendo estas hipótesis, se han realizado investigaciones usando lipopolisacárido como agente inmunoactivador. El lipopolisacárido (LPS) es una endotoxina con una estructura química glicolípida que se

encuentran en la membrana de las bacterias Gram negativas (Rietschel et ál., 1999), además, produce cambios bioquímicos y estructurales a nivel cerebral, y, por ende, en la conducta (Wischhof et al., 2015). Numerosos estudios han usado diversos paradigmas experimentales para observar los efectos de la inmunoactivación en aprendizaje, ansiedad o depresión. Algunos de ellos, en pruebas de memoria espacial utilizando el paradigma del Morris Water Maze (Lanté et al., 2008; Golan et al., 2006; Wischhof et al., 2015), el Open field test, donde se apreciaba una reducción en el tiempo que pasaban las ratas en la cámara oscura (Tenk et al., 2013), o el paradigma del Forced Swimming test (FST), que recrea un modelo de indefensión aprendida, donde se ha podido apreciar como aquellas ratas expuestas a un agente activador aumentaban las respuestas de indefensión, es decir, permanecían más tiempo inmóviles en el agua (Enayati et al., 2012). Estudios de comportamiento sociales, han visto un descenso de las conductas sociales naturales tras sufrir la exposición al agente activador (Yannadapuni et al., 2010; Naviaux et al., 2014). De la misma forma, esta vez usando ratones mutados (GSK-3 α knockout mice), se ha aplicado el Test de sociabilidad de Crawley para medir conductas sociales naturales, donde no se encontraban diferencias entre afiliación social y motivación por la novedad en los ratones experimentales (Kaidanovich-Beilin et al., 2011).

Por otro lado, el estrés provoca respuestas emocionales y fisiológicas en el animal. Es sabido que la exposición a estrés durante los periodos críticos del neurodesarrollo provoca también cambios funcionales en el cerebro. Esto se debe a que las sustancias químicas que se segregan durante el estrés (glucocorticoides) son lípidos cuya estructura molecular les permite atravesar todas las membranas del organismo. Por ende, un animal que sufra un episodio de estrés durante este periodo crítico, sea infancia o adolescencia, es probable que aumente sus probabilidades de desarrollar posteriormente algún trastorno donde estén involucradas conductas impulsivo-compulsivas (Patchev, Rodrigues, Sousa, Spengler, & Almeida, 2014). O'Connor y colaboradores (2002) publicaron un estudio donde ponían de manifiesto como la ansiedad en madres aumentaba el riesgo de patrones de conducta problemáticos en la infancia. Además, también existe la premisa de que una exposición inmunoactivadora temprana forje cierta vulnerabilidad a desarrollar conductas patológicas tras sufrir un episodio de estrés (Giovanoli et al., 2013).

Actualmente, no existen estudios realizados con modelos animales donde se evalúe el déficit de control inhibitorio en animales adultos tras haber sido expuestos a un agente activador del sistema inmune, y, además, haberle realizado posteriormente un protocolo de estrés. Por estas razones y dada la relevancia que tiene a nivel de salud pública, este estudio

que está comprendido dentro de la tesis doctoral de Santiago Mora Parada, ha abordado la interrogante de las causas del déficit de control inhibitorio mediante un proceso de activación inmune perinatal por LPS, protocolo de estrés durante la adolescencia y evaluación conductual en periodo adulto. Las tareas elegidas han sido la 5 Choice Serial Reaction Time (5-CSRT), el análogo a la prueba “continuous performance test” (Robbins, 2002), una tarea compleja que nos aporta una gran cantidad de datos. Entre ellos respuestas prematuras y perseverativas, reflejo directo de las conductas impulsivo-compulsivas. La prueba de Natación forzada, que permitirá explorar la conducta de indefensión en los animales experimentales.

1.1 Hipótesis y objetivo

El objetivo de este trabajo es estudiar si la activación temprana del sistema inmune y la exposición a estresores leves durante la adolescencia podría inducir un déficit en el control inhibitorio en modelos animales.

Por lo tanto, partiendo de la premisa de que una activación del sistema inmune durante los periodos críticos produce unos cambios estructurales y funcionales en el cerebro, y la posterior exposición a factores estresantes durante periodos sensibles, como la adolescencia, puede inducir al desarrollo de patrones de conducta impulsivo-compulsivos característicos de múltiples trastornos neuropsiquiátricos que afectan a una población bastante amplia se han formulado las siguientes hipótesis:

- Las ratas administradas con LPS durante la infancia gozarán de un peor control inhibitorio que aquellas administradas con salino.
- Las ratas expuestas a estrés durante la adolescencia desarrollaran un peor control inhibitorios que las no expuestas
- Habrá una interacción entre los dos factores, es decir, las ratas expuestas a LPS y estrés tendrán el peor control inhibitorio, las segundas serán las expuestas sólo a LPS o estrés y las mejores serán las que no han pasado por ninguna de las dos condiciones experimentales.

2. Materiales y Método

2.1. Animales

Se ha utilizado una muestra de cuarenta y ocho ratas Wistar macho que llegaron con una edad de 21 días post natales procedentes de Janvier (Francia). Las ratas fueron ubicadas en doce jaulas, cuatro por jaula, en el animalario del laboratorio de psicobiología del edificio de Neurociencia y Ciencias de la Salud (Universidad de Almería). Todas las jaulas han contado con libre acceso a agua y comida hasta el periodo adulto, día postnatal 90. Posteriormente se realizó un protocolo de privación de comida al 85% de su peso libre, con alimentación aproximada de 12,5 gr por rata al día, proporcionado al finalizar la prueba, y mantenido durante todo el procedimiento.

Todos los procedimientos han sido realizados conforme con el Real Decreto Español 1201/2005 sobre la protección de los animales de experimentación, y la Directiva Comunitaria Europea 86/609/EEC. Asimismo, todos los procedimientos que implican a los animales han sido llevados a cabo siempre por personas con acreditación de capacitación para el trabajo con animales de laboratorio.

2.2. Aparatos

2.2.1. Activación inmune

2.2.1.1. Sustancias

Lipopolisacárido (LPS) de E-Coli (Sigma) disuelto en suero salino con una concentración 100µg/kg. El Salino, además de vehículo de la sustancia LPS, ha sido usado como sustancia control. Ambas sustancias han sido administradas vía i.p. LPS ha sido seleccionado como sustancia principal dentro de los grupos experimentales por su capacidad activadora del sistema inmune. La administración fue realizada de forma subcrónica del día posnatal 26 al día posnatal 29 (PD26-PD29), etapa equiparable a la infancia en humanos.

2.2.2. Batería de observación funcional

Los parámetros registrados fueron medidos usando una evaluación de acuerdo interjueces por dos observadores

2.2.3. *Protocolo de estrés*

Dos de los grupos asignados pasaron un protocolo de exposición a estresores leves, en días alternos y siempre en periodo de actividad (oscuridad). Se necesitaron los siguientes materiales:

- a) Tanque cilíndrico lleno de agua
- b) Conos de plástico flexibles de tipo Decapicone® y cierre plástico ajustable
- c) Cajas hogar y serrín
- d) Agua

2.2.4. *5 choice serial reaction time task (5-CSRT)*

2.2.4.1. *Cajas operantes de Skinner*

La prueba ha sido realizada en seis cajas operantes de Skinner (MED Associates), para ello, se le agregó una lámina con curvatura fabricada en aluminio donde se encontraban las 5 ventanas donde se muestran los estímulos a los que los animales deben dar respuesta. Cada una de las cajas se encuentra dentro de una cámara de madera para un mayor aislamiento del ruido exterior. Las cámaras cuentan con un sistema de ventilación y una mirilla por la cual poder mirar el interior. Las paredes están hechas en material plexiglás y en su interior tienen una rejilla metálica, material que permite la conducción de la electricidad para el posterior registro de las respuestas. Además, poseen un comedero conectado a un dispensador de pellets (Noyes dustless pellets, 45 mg; TSE Systems, Alemania) que se encuentra fuera de la caja.

2.2.5. *Ordenador*

Se ha utilizado un ordenador con el programa Med-PC IV® (Cibertec, S.A, España) para el desarrollo de la prueba 5-CSRT y para el registro de los datos. Algunos datos fueron registrados mediante una hoja de registro (Ver [anexo 1](#)):

- I. Ensayos realizados totales
- II. Respuestas Correctas
- III. Respuestas Incorrectas
- IV. Omisiones

Para el posterior análisis de los datos y elaboración de las gráficas se han utilizado los programas IBM SPSS Statistics® (IBM Coporation, USA) y GraphPad Prism®.

2.2.6. Prueba de Natación forzada

Se ha requerido de un cubo cilíndrico de aproximadamente un metro de alto lleno de agua hasta poco menos de la mitad (el mismo que en el episodio de estrés, véase epígrafe 2.2.3). También han sido necesarios una hoja de registro (ver [anexo 2](#)) y dos cronómetros para medir el tiempo de inmovilidad de la rata en el agua y para controlar la duración de la prueba.

Además, hizo falta la coordinación de tres personas el desempeño de las diversas tareas de la prueba.

2.3. Diseño experimental

La secuencia seguida durante este experimento ha sido la siguiente: Exposición a LPS, batería de observación funcional, exposición a protocolo de estrés, tarea 5-CSRT Línea Base, prueba de natación forzada (FST), 5-CSRT. Ver Figura 1.

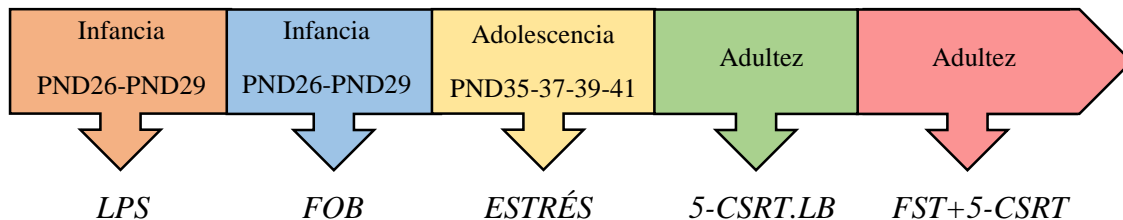


Figura 1. Secuencia temporal

Para el desarrollo del experimento fueron divididas en cuatro condiciones experimentales, encontrándose de variables la activación/no activación inmune durante el periodo perinatal y el estrés/no estrés durante la adolescencia. A cada uno de los grupos se le asignó 12 ratas de forma aleatoria. La distribución de los grupos fue la siguiente:

- I. SALINO-CONTROL. Ratas administradas con salino durante la etapa perinatal y sin protocolo de estrés durante la adolescencia.

- II. SALINO-ESTRÉS. Ratas administradas con salino durante la etapa perinatal y con protocolo de estrés durante la adolescencia.
- III. LPS-CONTROL. Ratas administradas con LPS durante la etapa perinatal y sin protocolo de estrés durante la adolescencia.
- IV. LPS-ESTRÉS. Ratas administradas con LPS durante la etapa perinatal y con protocolo de estrés durante la adolescencia.

Cada etapa del proceso experimental ha sido desarrollada dentro del intervalo de tiempo entre 8:30 y 15:00.

2.4. Procedimiento

2.4.1 Exposición a LPS

Durante los días postnatales veintiséis y veintinueve (PND26-PND29), ambos incluidos, período que corresponde a la infancia en humanos, fueron expuestas a las sustancias asignadas en función al grupo experimental al que pertenecían. Para aquellas ratas pertenecientes a los grupos SALINO-CONTROL o SALINO-ESTRÉS se les realizó una administración de 1ml/kg de Salino. Para las ratas pertenecientes a los grupos experimentales LPS-CONTROL o LPS-ESTRÉS se les administró idéntico volumen junto con la dosis antes indicada de Lipopolisacárido (100 µg/kg), endotoxina que induce una activación inmune.

Con ambas sustancias la administración se realizó con carácter subcrónico, es decir, durante cuatro días, y mediante vía de administración intraperitoneal (i.p.).

2.4.2. Batería de observación funcional

Tras la administración de LPS se procedió a realizar una batería de observación funcional para comprobar que la administración de LPS tuvo efecto fisiológico y/o comportamental y para detectar una posible intoxicación por parte del animal, y así evitar potenciales sesgos en los resultados.

Para ello se examinaron los siguientes parámetros: salivación, diarrea, temblor, piloerección, temperatura, lagrimeo y postura plana o encorvada (FOB; Moser, 1995; Sánchez-Santed et al., 2004). La observación se realizó 4 horas después de cada administración.

2.4.3. Exposición a estresores

Transcurridos seis días desde la administración de la sustancia se comenzó con el protocolo de exposición a estresores leves. Se efectuó durante cuatro días no consecutivos (PND35, PND37, PND39, PND41) en periodo de actividad (fase de oscuridad).

- a) Caja mojada. Requirió humedecer la jaula-hogar con agua. Se le humedeció con 400 ml de agua el serrín durante 10 horas.
- b) Cambio de caja. Se realizó cambiándoles durante cuatro días no consecutivos de jaula-hogar con serrín limpio, rompiendo así con el entorno al que se habían adaptado.
- c) Inmovilización. Se metieron a las ratas en conos flexibles de forma que no pudieran moverse durante treinta y cinco minutos.
- d) Natación forzada. Se introdujeron a las ratas en un tanque de agua durante dos periodos de 1 minuto separados por un periodo de 3 minutos. Una vez terminado el tiempo se secaron y se devolvieron a su jaula-hogar. Se llevó a cabo con las ratas de forma individual.

2.4.4. Evaluación conductual

2.4.4.1. Tarea 5-choice serial reaction time task (5-CSRT). Línea Base

La tarea 5-CSRT se llevó a cabo en las cajas de Skinner. Las cajas tienen cinco pequeñas ventanas a través de las que se presentan los estímulos visuales a los que deberán responder los animales y una luz ambiente que siempre se mantendrá encendida salvo en caso de error. La tarea tiene una duración de cien ensayos o treinta minutos. Cada estímulo se presenta durante 1 segundo. En cada ensayo se enciende una de las luces de las cinco ventanas. Para responder las ratas deben meter la nariz por la ventana donde se haya presentado el estímulo, si la respuesta es correcta se le reforzará con un pellet, de lo contrario, si la respuesta es errónea, la luz ambiente se apagará, tiempo fuera o time-out (Moreno et al., 2010). La disposición espacial y procedimiento de la prueba se puede visualizar en la figura 2. Todas las respuestas de las ratas se registran en el ordenador. Estas son:

- Respuestas correctas. Numero de respuestas a los estímulos realizadas correctamente
- Respuestas incorrectas. Numero de respuestas a los estímulos realizadas erróneamente

- Precisión. Porcentaje de respuestas correctas $\frac{\text{Ensayos Correctos}}{\text{Ensayos Correctos} + \text{Ensayos incorrectos}} \times 100$
- Omisiones. Numero de estímulos presentados sin dar una respuesta
- Respuestas perseverativas. Numero de respuestas repetidas a un mismo estímulo
- Respuestas prematuras. Numero de respuestas ejecutadas previo a la presentación del estímulo
- Latencia a la respuesta correcta. Tiempo que transcurre desde la presentación del estímulo hasta que se ejecuta la respuesta correcta
- Latencia a la respuesta incorrecta. Tiempo que transcurre desde la presentación del estímulo hasta que se ejecuta la respuesta incorrecta
- Latencia al refuerzo. Tiempo que transcurre hasta que el animal recoge el pellet

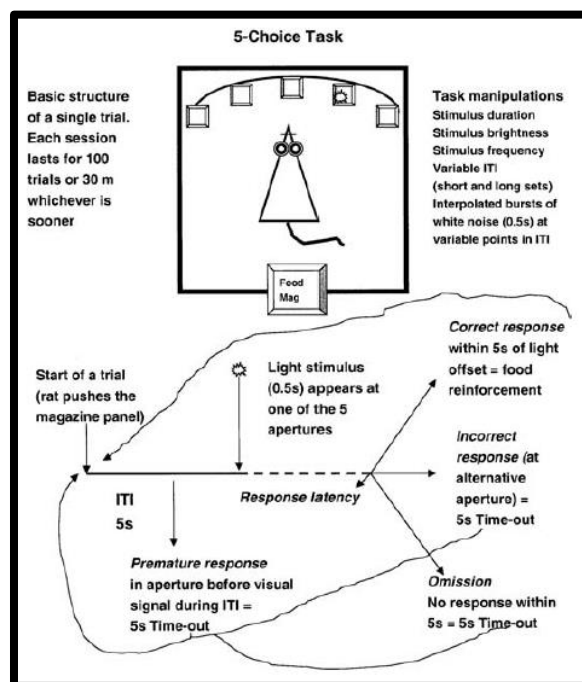


Figura 2. Esquema de la caja operante de Skinner utilizada para la prueba 5-CSRT. Procedimiento de un ensayo. Extraído de Robbins (2002)

2.4.4.2. Prueba de Natación forzada

Las 48 ratas fueron metidas en el tanque de agua de una en una. Una vez en el agua, se ponía en marcha el cronómetro para controlar que la rata estuviera en el agua un minuto. Una vez terminado el minuto tenían que ser secadas con papel secantes y depositadas en la jaula hogar, que se encontraba encima de la manta eléctrica para evitar que pasen frío, donde debían esperar tres minutos más y volver a realizar un minuto de natación forzada. Se registraron con un cronómetro el tiempo que pasaba inmovilizada cada rata en el agua. Terminado este último minuto se volvían a secar y procedían a realizar la prueba 5-CSRT.

Una vez terminada la prueba y registrados los datos, las ratas se devolvieron al animalario. Para la realización de esta prueba hicieron falta tres personas encargadas cada una de una tarea durante la natación forzada: una persona que metiera las ratas, las sacara y las secara; una persona para cronometrar el tiempo de inmovilidad de cada rata y otra persona encargada de cronometrar la duración de la prueba y el registro de los datos.

3. Resultados

3.1. Batería de Observación Funcional

Para el parámetro de Temperatura se ha realizado la prueba T de Student entre los dos grupos, en función del tratamiento, para cada una de las medidas realizadas. Para la medida realizada a las 4h de la administración se cumplen los supuestos de Homogeneidad ($P=0,387$) y Normalidad ($P=0,077$). La prueba T de Student revela diferencias significativas entre el grupo administrado con LPS ($M=35,958$; $SD=0,5770$) y el grupo administrado con Salino ($M=35,504$; $SD=7799$) ($t(46) = -2,293$; $P= 0,026$). Para la medida realizada a las 24h de la administración se cumplen los supuestos de Homogeneidad ($P= 0,542$) y Normalidad ($P= 0,063$). No existen diferencias según la prueba T de Student entre LPS ($M=36,117$; $SD=0,5247$) y Salino ($M=35,863$; $SD=0,4906$) ($t(46)= -1,733$; $P= 0,090$). Para la medida realizada a las 48h de la administración se cumplen los supuestos de Homogeneidad ($P= 0,265$) y Normalidad ($P= 0,964$). No existen diferencias según la prueba T de Student entre LPS ($M=36,083$; $SD=0,3332$) y Salino ($M=35,883$; $SD=0,4188$) ($t(46)= -1,831$; $P= 0,074$). Para la medida realizada a las 72h de la administración se cumplen los supuestos de Homogeneidad ($P= 0,352$) y Normalidad ($P= 0,293$). No existen diferencias según la prueba T de Student entre LPS ($M=36,208$; $SD=0,4283$) y Salino ($M=36,029$; $SD=0,4903$) ($t(46)= -1,348$; $P= 0,184$). Para una visión conjunta ver figura 3.

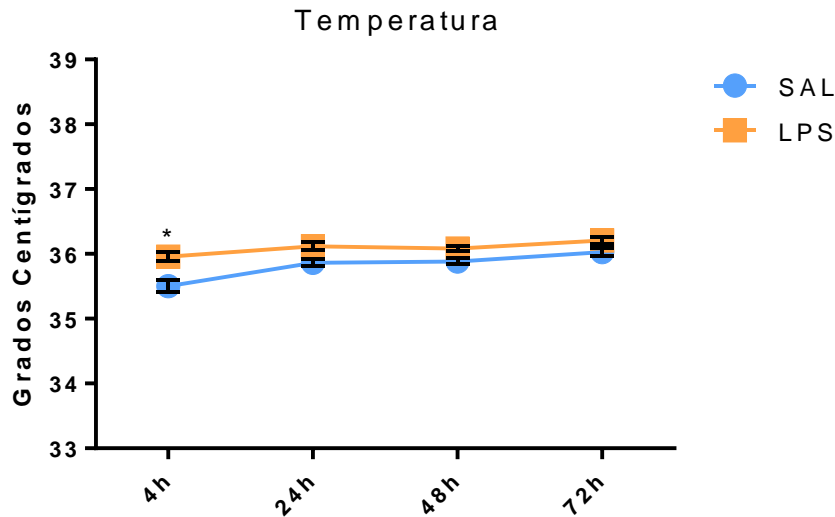


Figura 3. Línea temporal para las medidas de Temperatura. Media y error Grupo/Día.

Para el parámetro de peso se ha realizado la prueba T de Student entre los dos grupos, en función del tratamiento, para cada una de las medidas realizadas. Para la medida de la Línea Base se cumplían los supuestos de Normalidad ($P= 0,739$) y de Homogeneidad ($P= 0,094$). La prueba T de Student no muestra diferencias significativas entre LPS ($M=91$; $SD=4,4526$) y Salino ($M=91,250$; $SD=6,4824$) ($t(46)= 0,156$; $P= 0,877$). Para la medida de las 24h se cumplen los supuestos de Normalidad ($P= 0,817$) y de Homogeneidad ($P= 0,537$). La prueba T de Student muestra diferencias significativas entre LPS ($M=89,458$; $SD=15,3651$) y Salino ($M=97,875$; $SD=7,0174$) ($t(46)= 2,441$; $P= 0,019$). Para la medida de las 48h se cumplen los supuestos de Normalidad ($P= 0,915$) y de Homogeneidad ($P= 0,050$). La prueba T de Student muestra diferencias muy significativas entre LPS ($M=98,083$; $SD=4,7996$) y Salino ($M=103,792$; $SD=7,3661$) ($t(46)=3,181$; $P= 0,003$). Para la medida de las 72h se cumplen los supuestos de Normalidad ($P= 0,989$) y de Homogeneidad ($P= 0,081$). La prueba T de Student muestra diferencias muy significativas entre LPS ($M=104,167$; $SD=5,0962$) y Salino ($M=110,458$; $SD=7,7346$) ($t(46)=3,328$; $P= 0,002$). Para la medida de los 7 días se cumplen los supuestos de Normalidad ($P= 0,968$) y de Homogeneidad ($P= 0,490$). La prueba T de Student muestra diferencias significativas entre LPS ($M=153,208$; $SD=9,2641$) y Salino ($M=160,500$; $SD=10,7015$) ($t(46)=2,524$; $P= 0,015$). Para la medida de los 14 días se cumplen los supuestos de Normalidad ($P= 0,873$) y de Homogeneidad ($P= 0,962$). No existen diferencias significativas entre LPS ($M=225,458$; $SD=14,6406$) y Salino ($M=231$; $SD=14,8938$) ($t(46)= 1,300$; $P= 0,200$). Para una visión conjunta ver figura 4.

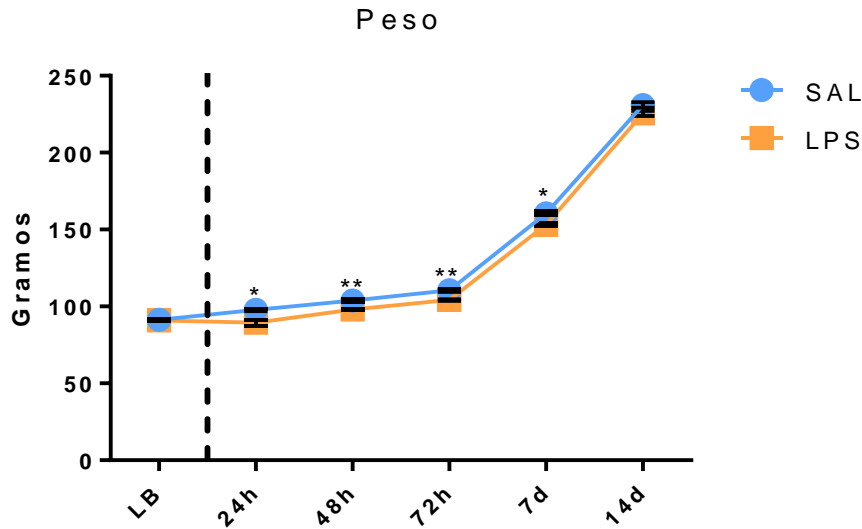


Figura 4. Línea temporal para las medidas del Peso. Media y error Grupo/Día.

No se han observado la presencia del resto de parámetros por lo que no se ha procedido a analizar las diferencias.

3.2. Tarea 5-CSRT. Línea Base

Tras analizar los parámetros realizados durante la FOB se ha procedido a analizar la línea base de la prueba 5-CSRT del procedimiento experimental. Se ha realizado un análisis de varianza (ANOVA) de los promedios entre los grupos experimentales para cada una de las medidas obtenidas con la prueba.

Para las Respuestas Correctas no se han encontrado diferencia estadísticamente significativa entre los grupos por la variable Estrés ($F(1, 44) = 2,027$; $P = 0,1616$), ni por la variable tratamiento ($F(1, 44) = 1,004$; $P = 0,3219$), ni interacción entre ambas ($F(1, 44) = 3,670$; $P = 0,0619$). Para las Respuestas Incorrectas no se han encontrado diferencias entre los grupos por la variable Estrés ($F(1, 44) = 0,9407$; $P = 0,3374$), ni por la variable Tratamiento ($F(1, 44) = 0,4350$; $P = 0,5130$). Sí se ha encontrado una interacción entre ambas variables ($F(1, 44) = 5,063$; $P = 0,0295$). Para las Omisiones no se han encontrado diferencias por la variable Estrés ($F(1, 44) = 2,781$; $P = 0,1025$), ni por la variable Tratamiento ($F(1, 44) = 1,531$; $P = 0,2225$), ni interacción entre ambas variables ($F(1, 44) = 0,1418$; $P = 0,7083$). En cuanto a la Precisión tampoco se han hallado diferencias en las variables de Estrés ($F(1, 44)$

= 1,168; $P = 0,2858$) o de Tratamiento ($F(1, 44) = 0,4648$; $P = 0,4990$), aunque sí se han encontrado interacción entre ambas ($F(1, 44) = 4,902$; $P = 0,0321$). Ver Figura 5.

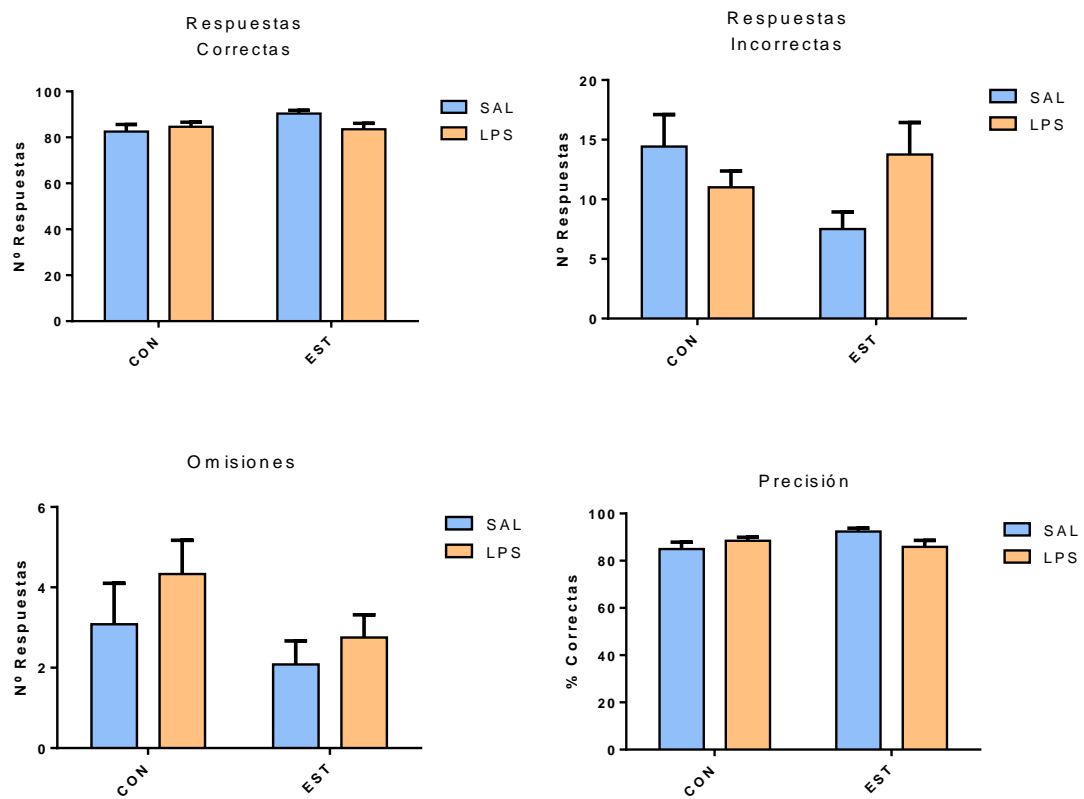


Figura 5. Media y error para las medidas Respuestas Correctas, Respuestas Incorrectas, Omisiones y Precisión.

Para las Respuestas Perseverativas no se han hallado diferencias para la variable de Estrés ($F(1, 44) = 0,4006$; $P = 0,5300$), ni para la variable Tratamiento ($F(1, 44) = 0,4431$; $P = 0,5091$), ni interacción entre ambas ($F(1, 44) = 1,153$; $P = 0,2887$). Para las Respuestas Prematuras no se han hallado tampoco diferencias para la variable de Estrés ($F(1, 44) = 0,05029$; $P = 0,8236$), ni para la variable de Tratamiento ($F(1, 44) = 1,308$; $P = 0,2589$), ni interacción entre ambas ($F(1, 44) = 1,207$; $P = 0,2778$). Ver Figura 6.

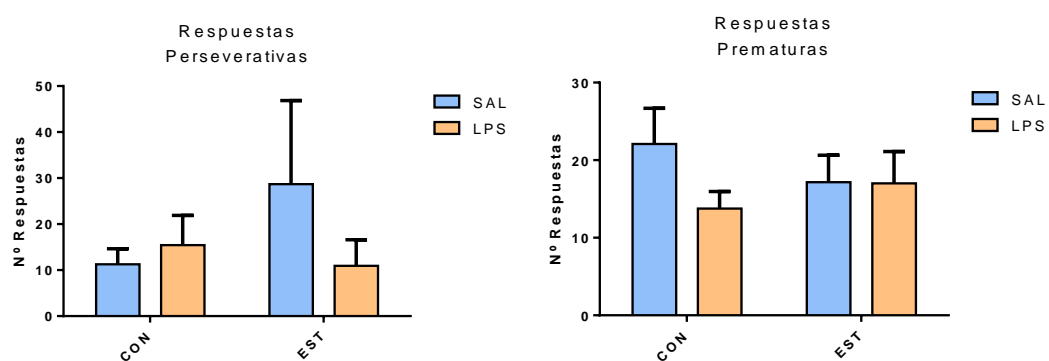


Figura 6. Media y error para las medidas Respuestas Perseverativas y Respuestas Prematuras.

En cuanto a la Latencia al Refuerzo no hay diferencias para la variable Estrés ($F(1, 44) = 0,2124$; $P = 0,6471$), ni para la variable Tratamiento ($F(1, 44) = 1,823$; $P = 0,1838$), ni interacción ($F(1, 44) = 2,760$; $P = 0,1038$). De igual forma, para la Latencia a la Respuesta Incorrecta no hay diferencias entre los grupos para la variable Estrés ($F(1, 44) = 0,03938$; $P = 0,8436$), ni para la variable Tratamiento ($F(1, 44) = 2,221$; $P = 0,1432$), ni interacción entre ambas ($F(1, 44) = 1,456$; $P = 0,2340$). Para la Latencia a la Respuesta Correcta sí se ha hallado diferencias para la variable Estrés ($F(1, 44) = 5,799$; $P = 0,0203$) y para la variable Tratamiento ($F(1, 44) = 5,019$; $P = 0,0302$), sin embargo, no existe interacción entre ambas variables ($F(1, 44) = 1,573$; $P = 0,2163$).

3.3. Prueba de Natación Forzada

Siguiendo el mismo método que para la línea base de la 5-CSRT se ha procedido a analizar los nuevos datos de esta tarea tras realizar la prueba de natación forzada.

En la prueba de natación forzada, atendiendo al tiempo de inmovilidad promedio de cada grupo en el segundo ensayo de la prueba (inmediatamente anterior a la realización de la tarea) se han encontrado diferencias bastante significativas para la variable de Estrés ($F(1, 44) = 10,24$; $P = 0,0025$), pero no para la variable de Tratamiento ($F(1, 44) = 1,206$; $P = 0,2782$), ni interacción entre ambas ($F(1, 44) = 0,4590$; $P = 0,5016$). Ver Figura 7.

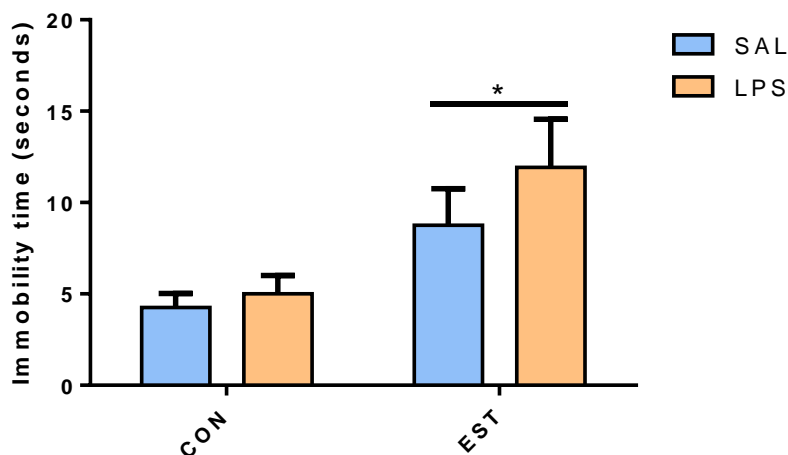


Figura 7. Media y error para la medida de Tiempo de Inmovilidad

3.4. Tarea 5-CSRT

En la tarea 5-CSRT, para las respuestas Correctas sí se han hallado diferencias estadísticamente significativas para la variable de Estrés ($F(1, 44) = 6,826$; $P = 0,0122$). No se han encontrado diferencias para la variable de tratamiento ($F(1, 44) = 0,1006$; $P = 0,7526$). Sí hay interacción entre ambas ($F(1, 44) = 14,60$; $P = 0,0004$). Para las respuestas Incorrectas hay diferencias para la variable de Estrés ($F(1, 44) = 5,078$; $P = 0,0293$). No hay diferencias para la variable de Tratamiento ($F(1, 44) = 0,06269$; $P = 0,8035$), pero sí hay interacción entre ambas variables ($F(1, 44) = 9,331$; $P = 0,0038$). Para las Omisiones no se han encontrado diferencias para la variable de Estrés ($F(1, 44) = 1,992$; $P = 0,1651$), ni para la variable de Tratamiento ($F(1, 44) = 0,04967$; $P = 0,8247$), pero sí hay interacción entre ambas ($F(1, 44) = 6,761$; $P = 0,0126$). En la Precisión sí hay diferencias para la variable Estrés ($F(1, 44) = 5,436$; $P = 0,0244$). No hay diferencias en la variable de Tratamiento ($F(1, 44) = 0,02838$; $P = 0,8670$), pero sí existe una interacción entre ambas ($F(1, 44) = 10,16$; $P = 0,0026$). Ver figura 8.

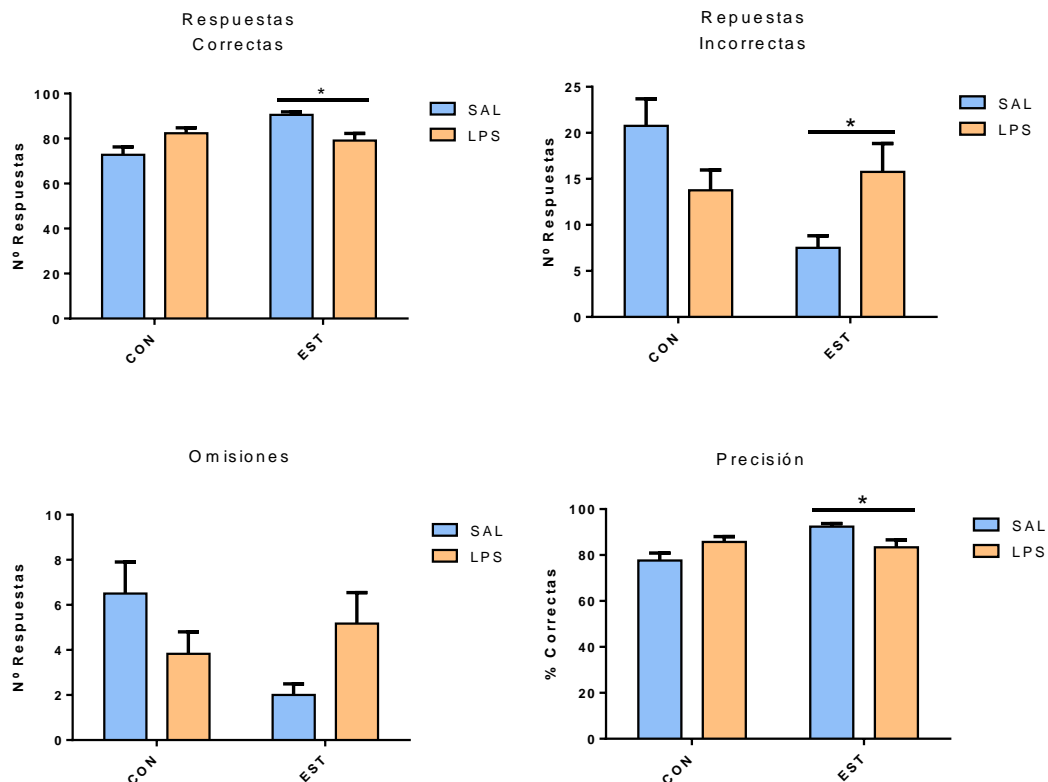


Figura 8. Media y error para las medidas Respuestas Correctas, Respuestas Incorrectas, Omisiones y Precisión.

Para las respuestas Perseverativas no se han encontrado diferencias en la variable Estrés ($F(1, 44) = 0,4006$; $P = 0,5300$), ni para la variable Tratamiento ($F(1, 44) = 0,4431$; P

= 0,5091), ni interacción entre ambas ($F(1, 44) = 1,153$; $P = 0,2887$). Para las respuestas Prematuras no se han encontrado tampoco diferencias para la variable de Estrés ($F(1, 44) = 0,05029$; $P = 0,8236$), ni para la variable de Tratamiento ($F(1, 44) = 1,308$; $P = 0,2589$), ni interacción entre ambas ($F(1, 44) = 1,207$; $P = 0,2778$). Ver figura 9.

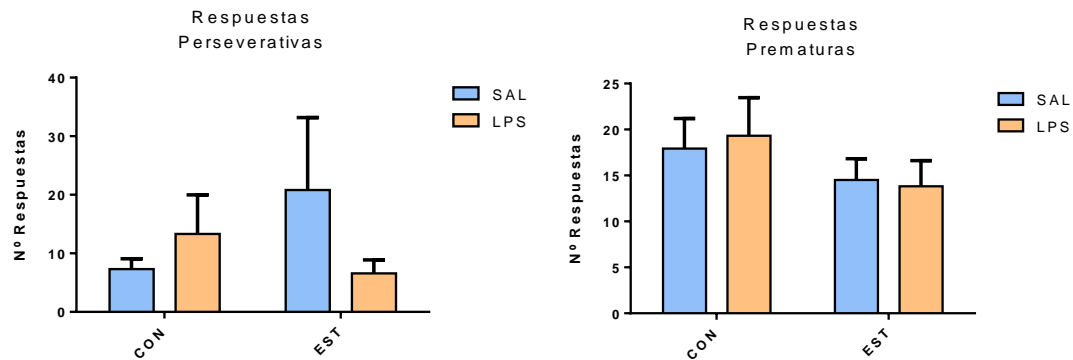


Figura 9. Media y error para las medidas Respuestas Perseverativas y Respuestas Prematuras.

En cuanto a la Latencia al Refuerzo no se ha hallado diferencias para la variable de Estrés ($F(1, 44) = 0,01720$; $P = 0,8962$), ni para la variable de Tratamiento ($F(1, 44) = 0,8235$; $P = 0,3691$), ni interacción ($F(1, 44) = 1,914$; $P = 0,1735$). Para la Latencia a la Respuesta Incorrecta no existen diferencias para la variable de Estrés ($F(1, 44) = 3,594$; $P = 0,0646$), ni para la variable de Tratamiento ($F(1, 44) = 0,1369$; $P = 0,7131$), pero si hay interacción ($F(1, 44) = 9,357$; $P = 0,0038$). Para la Latencia a la Respuesta Correcta sí se ha encontrado diferencias en la variable de Tratamiento ($F(1, 44) = 5,520$; $P = 0,0234$). No se han hallado diferencias para la variable de Estrés ($F(1, 44) = 0,4196$; $P = 0,5205$), ni interacción entre ambas ($F(1, 44) = 0,8424$; $P = 0,3637$).

4. Discusión

Los datos hallados en la FOB demuestran que la administración de LPS ha producido efectos fisiológicos en los animales. Concretamente, en la temperatura hay diferencias 4 horas después de la primera administración, posiblemente se deba a la respuesta fisiológica contra el agente extraño que ha detectado el organismo. Además, también hay diferencias en el peso, se puede apreciar como las ratas administradas con LPS se encuentran más rezagadas a la hora de coger peso hasta los 14 días que alcanzan el peso de las ratas administradas con salino.

En la línea base de la tarea 5-CSRT los datos no muestran que haya diferencias en las variables de ejecución (Respuestas correctas, respuestas incorrectas, omisiones y precisión). Todos los grupos, independientemente de si han sido administrados con LPS o salino,

expuestos o no a estrés, o ambas, muestran un promedio alto de respuestas correctas (entorno al 80%), un promedio bajo de repuestas incorrectas, un promedio aún más bajo de omisiones y una alta precisión en la tarea. Las medidas de respuestas perseverativas y prematuras tampoco han mostrado ninguna diferencia significativa entre los grupos. La latencia a la respuesta incorrecta y la latencia al refuerzo tampoco han mostrado ninguna diferencia entre los grupos experimentales. En la latencia a la respuesta correcta sí se han encontrado diferencias entre los grupos. Los grupos que no fueron expuestos a estrés (SALINO-CONTROL, LPS-CONTROL) de promedio tardan más tiempo en dar una respuesta correcta desde la aparición del estímulo que aquellos grupos que los grupos que sí fueron expuestos (SALINO-ESTRÉS, LPS-ESTRÉS). Por otro lado, los grupos administrados con LPS (LPS-CONTROL, LPS-ESTRÉS) de promedio tardan más en dar una respuesta correcta. Por lo tanto, aunque cabría esperar que el grupo que menos tiempo tarde sea el SALINO-CONTROL y el que más tarde sea LPS-ESTRÉS, el orden (de menor a mayor tiempo) es el siguiente: SALINO-ESTRÉS, LPS-ESTRÉS, SALINO-CONTROL, LPS-CONTROL.

Los datos de la prueba de natación forzada han mostrado diferencias significativas. Las ratas que fueron expuestas a estrés durante la adolescencia han tenido un tiempo de inmovilidad claramente superior a aquellas que no. Este efecto puede deberse a que dentro del protocolo de estrés se ha realizado también la prueba de natación forzada, por lo que, los animales pertenecientes a los grupos de estrés ya tenían experiencia con el procedimiento.

En la prueba de 5-CSRT, realizada inmediatamente después de la prueba de natación forzada, sí se han hallado diferencias estadísticas en las medidas de ejecución, pero solo en función de la variable de Estrés. Las ratas pertenecientes a los grupos que pasaron el protocolo de estrés (SALINO-ESTRÉS, LPS-ESTRÉS) han tenido un promedio mayor de respuestas correctas, un promedio menor de errores y una mayor precisión que aquellos no expuesto al protocolo (SALINO-CONTROL, LPS-CONTROL). Este efecto podría explicarse bajo la premisa de que la exposición a estrés durante la adolescencia les ha dotado de una mejor gestión del estrés. En omisiones no se han encontrado diferencias. Las medidas de respuestas prematuras y perseverativas tampoco se han visto afectas tras la prueba de natación forzada. No se han encontrado diferencias entre grupos para la latencia a la respuesta incorrecta o la latencia al refuerzo. Sí hay diferencia para la latencia a la respuesta correcta en función de la variable de tratamiento. Es decir, los grupos administrados con LPS han tardado más tiempo en dar una respuesta correcta desde la aparición del estímulo que aquellos grupos que fueron administrados con salino.

En una visión global del procedimiento se puede apreciar la prueba de natación forzada ha producido diferencias en los grupos, independientemente del tratamiento, obteniendo mejores puntuaciones los grupos estresados durante la adolescencia.

Pese a que no hay diferencias en ejecución de tarea entre grupos (ni, lamentablemente, en variables de control inhibitorio), tras la exposición a Natación forzada aparecen diferencias entre animales de grupos estrés (que, curiosamente, mostraron más inmovilidad en el estrés adulto) y grupos control, mostrando una mejor ejecución de los estresados. Se puede apreciar cómo, realmente, los estresados siguen haciendo la tarea igual de bien tras la natación forzada, mientras que los demás caen en picado. Esto podría explicarse en términos de resiliencia o similares.

5. Conclusiones

Los datos recogidos no confirman las hipótesis previas. Por un lado, no se han encontrado diferencias en las respuestas de control inhibitorio (respuestas prematuras y respuestas perseverativas) ni en la línea base de la tarea conductual 5-CSRT, ni después de la prueba de natación forzada, en ninguna de las dos variables (tratamiento y estrés). Por otro lado, sí se han hallado diferencias estadísticamente significativas en inmovilidad en la prueba de natación forzada. Los grupos de ratas que habían sido expuestas a protocolo de estrés, durante la adolescencia, han permanecido un mayor tiempo quietas en el agua, siendo la conducta natural nadar para sobrevivir. Este efecto de Indefensión ha sido ampliamente estudiado por otros autores también bajo premisas de inmunoactivación (Enayati et al., 2012). Además, también se han encontrado diferencias en ejecución de la tarea, que, contrariamente a lo que se podía prever, han sido los grupos expuestos a estrés aquellos que han tenido un mejor rendimiento, independientemente del tratamiento que habían recibido.

Para futuras investigaciones siguiendo esta línea, podrían realizarse algunas modificaciones que ayudasen a recoger mayor información que de explicación a los resultados obtenidos y, además, guíe a la investigación al logro de los objetivos previamente planteados. En primer lugar, para la inmunoactivación utilizar una sustancia que cause una infección en el animal. El LPS es el principal antígeno que se encuentra en la membrana de las bacterias Gram negativas y activa el sistema inmune, razón por la que causa fiebre o dificultad en la ganancia de peso durante el crecimiento, pero no infecta el organismo. También podría endurecerse el protocolo de estrés, siendo este más intenso y/o duradero o con utilizando otros paradigmas, como el aislamiento social o la presencia de un depredador natural.

Además de todo esto, también podrían realizarse más pruebas para la medición conductual o agregar al procedimiento pruebas fisiológicas (análisis de GC en sangre, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria) que podría ofrecer más datos acerca del estado del animal durante las pruebas.

6. Referencias

- Bari, A., & Robbins, T. W. (2013). Inhibition and impulsivity: Behavioral and neural basis of response control. *Progress in Neurobiology*, 108, 44–79.
- Benros, M.E., Eaton, W.W. & Mortensen, P.B. (2014). The epidemiologic evidence linking autoimmune diseases and psychosis. *Biol. Psychiatry*. 75(4): 300-306
- Brimberg, L., Benhar, I., Mascaro-Blanco, A., Alvarez, K., Lotan, D., Winter, C., Klein, J., Moses, A.E., Somnier, F.E., Leckman, J.F., Swedo, S.E., Cunningham, M.W. & Joel, D. (2012). Behavioral, pharmacological, and immunological abnormalities after streptococcal exposure: a novel rat model of Sydenham chorea and related neuropsychiatric disorders. *Neuropsychopharmacology*. 37: 2076-2087
- Dalley, J., Everitt, B. & Robbins, T. (2011). Impulsivity, Compulsivity, and Top-Down Cognitive Control. *Neuron*, 69(4), 680-694. doi: 10.1016/j.neuron.2011.01.020
- Descartes, R., (1989). *The passions of the soul*. USA: Hackett Publishing (Voss, S. H. trans.).
- Enayati, M., Solati, J., Hosseini, M.H., Shahi, H.R., Saki, G., Salari, A.A. Maternal infection during late pregnancy increases anxiety- and depression-like behaviors with increasing age in male offspring. *Brain Research Bulletin*, 87 (2). 295-302
- Fernando, A.B. & Robbins, T.W. (2011). Animal models of neuropsychiatric disorders. *Annual Review of Clinical Psychology*, 7, 39-61. doi: 10.1146/annurev-clinpsy-032210-104454
- Freud, S., 1959. *Inhibitions, Symptoms and Anxiety* (The Standard Edition). W.W. Norton & Company, Inc, New York.
- Gall, F.J. (Ed.), 1835. On the Functions of the Brain and on Each of its Parts. *Marsh, Capen and Lyon, Boston*, [Original work published 1822-1825].
- Giovanoli, S., Engler, H., Engler, A., Richetto, J., Voget, M., Willi, R., Winter, C., Riva, M.A., Mortensen, P.B., Feldon, J., Schedlowski, M. & Meyer, U. (2013). Stress in puberty unmasks latent neuropathological consequences of prenatal immune activation in mice. *Science*. 339(6123): 1095-1099

- Golan, H. (2006). Normal aging of offspring mice of mothers with induced inflammation during pregnancy. *Neuroscience*, 1909-18
- Gordon N (2009). Sydenham's chorea, and its complications affecting the nervous system. *Brain Dev* 31: 11–14.
- Hoffman, K.L., Hornig, M., Yaddanapudi, K., Jabado, O. & Lipkin, W.I. (2004). A murine model for neuropsychiatric disorders associated with group A beta-hemolytic streptococcal infection. *J. Neurosci.* 24: 1780-1791
- Hollander, E., DelGiudice-Asch, G., Simon, L., Schmeidler, J., Cartwright, C., DeCaria, C.M., Kwon, J., Cunningham-Rundles, C., Chapman, F. & Zabriskie, J.B. (1999). B lymphocyte antigen D8/17 and repetitive behaviors in autism. *Am. J. Psychiatry.* 156(2): 317-320
- Husby G, v de Rijn I, Zabriskie JB, Ardin ZH, Williams Jr RC (1977) Antineuronal antibody in Sydenham's chorea. *Lancet* 1:1208.
- Kaidanovich-Beilin, O., Lipina, T., Vukobradovic, I., Roder, J., Woodgett, J.R. Assessment of Social Interaction Behaviors. *J. Vis. Exp.* (48), e2473, doi:10.3791/2473 (2011).
- Lanté, F., Meunier, J., Guiramand, J., De Jesus Ferreira, M.-C., Cambonie, G., Aimar, R., Cohen-Solal, C., Maurice, T., Vignes, M. and Barbanel, G. (2008), Late N-acetylcysteine treatment prevents the deficits induced in the offspring of dams exposed to an immune stress during gestation. *Hippocampus*, 18: 602–609. doi: 10.1002/hipo.20421
- Leckman JF, Peterson BS, Pauls DL, Cohen DJ. Tic disorders. *Psychiatr Clin North Am* 1997; 20: 839–861.
- Margutti, P., Delunardo, F. & Ortona, E. (2006). Autoantibodies associated with psychiatric disorders. *Curr. Neurovasc. Res.* 3(2): 149-157
- Marques-Dias MJ, Mercadante MT, Tucker D, Lombroso P (1997). Sydenham's chorea. *Psychiatr Clin North Am* 20: 809–820.
- Moreno M., Cardona D., Gomez M.J., Sanchez-Santed F., Tobena A., Fernandez-Teruel A., Campa L., Sunol C., Escarabajal M.D., Torres C., Flores P (2010). Impulsivity Characterization in the Roman High- and Low-Avoidance Rat Strains: Behavioral and Neurochemical Differences. *Neuropsychopharmacology* (2010) 35, 1198–1208

- Muller N, Kroll B, Schwarz MJ, Riedel M, Straube A, Lutticken R, Reinert RR, Reineke T, Kuhnemund O (2001) Increased titers of antibodies against streptococcal M12 and M19 proteins in patients with Tourette's syndrome. *Psychiatry Res* 101:187–193.
- Murphy TK, Husted DS, Edge PJ (2006). Preclinical/Clinical evidence of central nervous system infectious etiology in PANDAS. *Adv Neurol* 99: 148–158.
- Naviaux, J.C., Schuchbauer, M.A., Li, K., Wang, L., Risbrough, V.B., SB Powell, S.B. and Naviaux, R.K. (2014) Reversal of autism-like behaviors and metabolism in adult mice with single-dose antipurinergic therapy. *Translational Psychiatry* 4, 1-11
- O'Connor TG, Heron J, Golding J, Beveridge M, Glover V. Maternal antenatal anxiety and childrens behavioural/emotional problems at 4 years. Report from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *Br J Psychiatry*. 2002; 180:502-8.
- Oldham, J.M., Hollander, E. & Skodol, A.E. (1996). Impulsivity and Compulsivity. Washington DC: *American Psychiatric Press*
- Patchev, A. V., Rodrigues, A. J., Sousa, N., Spengler, D. and Almeida, O. F. X. (2014), The future is now: early life events preset adult behaviour. *Acta Physiologica*, 210: 46–57. doi: 10.1111/apha.12140
- Pavlov, I.P. (Ed.), 1927. *Conditional Reflexes: An Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex*. Oxford University Press, London.
- Peterson BS, Leckman JF, Tucker D, Scahill L, Staib L, Zhang H, King R, Cohen DJ, Gore JC, Lombroso P (2000) Preliminary findings of antistreptococcal antibody titers and basal ganglia volumes in tic, obsessivecompulsive, and attention deficit/hyperactivity disorders. *Arch Gen Psychiatry* 57:364–372.
- Platón, R., (2014). *Fedro*. Madrid: Gredos. (Lledó, E. Trans)
- Rietschel, E. T.; Westphal, O.; Brade, H.; Opal, S. M.; Vogel, S. N.; Morrison. & Marcel, D. C. “History of Endotoxins”. *Endotoxins in Health and Disease*. (1999):1–30.
- Robbins, T.W. (2002). The 5-choice serial reaction time task: behavioural pharmacology and functional neurochemistry. *Psychopharmacology*, 163(3-4), 362-380. doi: 10.1007/s00213-002-1154-7

- Sánchez-Santed, F., Canadas, F., Flores, P., López-Grancha, M. & Cardona, D. (2004). Long-term functional neurotoxicity of paraoxon and chlorpyrifos: behavioural and pharmacological evidence. *Neurotoxicol. Teratol.* 26: 305-317
- Skinner, B.F., 1953. *Science and Human Behavior*. Macmillan, New York.
- Skodol, A.E. & Oldham, J.M. (1996). Phenomenology, Differential diagnosis, and comorbidity of impulsive–compulsive spectrum of disorders. En: Oldham, J.M., Hollander, E. and Skodol, A.E. (Eds.), *Impulsivity and Compulsivity* (1-36). *Washington DC: American Psychiatric Press*
- Smith, R., 1992. *Inhibition: History and Meaning in the Sciences of Mind and Brain*. University of California Press, Berkeley, CA.
- Snider, L.A. & Swedo, S.E. (2004). PANDAS: current status and directions for research. *Mol. Psychiatry.* 10: 900-907
- Stollerman GH (1997). Rheumatic fever. *Lancet* 349: 935–942.
- Swedo SE, Leonard HL, Garvey M, Mittleman B, Allen AJ, Perlmutter S, Lougee L, Dow S, Zamkoff J, Dubbert BK (1998) Pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections: clinical description of the first 50 cases. *Am J Psychiatry* 155:264–271.
- Swedo SE, Rapoport JL, Cheslow DL, Leonard HL, Ayoub EM, Hosier DM et al (1989). High prevalence of obsessivecompulsive symptoms in patients with Sydenham’s chorea. *Am J Psychiatry* 146: 246–249.
- Tenk, C., Kavaliers, M., Ossenkopp. K. (2013). Neonatal treatment with lipopolysaccharide differentially affects adult anxiety responses in the light-dark test and taste neophobia test in male and female rats. *Int. J. Dev. Neurosci.*, 31, pp. 171–180
- Wischhof, L., Irrsack, E., Osorio, C. & Koch, M. (2015). Prenatal LPS-exposure--a neurodevelopmental rat model of schizophrenia--differentially affects cognitive functions, myelination and parvalbumin expression in male and female offspring. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 57: 17-30
- Yaddanapudi, K., Hornig, M., Serge, R., De Miranda, J., Baghban, A., Villar, G. & Lipkin, W.I. (2010). Passive transfer of streptococcus-induced antibodies reproduces

behavioral disturbances in a mouse model of pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infection. *Mol. Psychiatry*. 7:712-726

Zornberg GL, Buka SL, Tsuang MT. Hypoxic-ischemia-related fetal/neonatal complications and risk of schizophrenia and other nonaffective psychoses: a 19- year longitudinal study. *J Psychiatry Am*. 2000;157(2):196-202.

ANEXOS

Anexo 1

Hoja de registro de 5-CSRT

RAT A	CAJ A	NIVE L	ENSAYOS	CORREC (%)	INCORR (%)	OMIS (%)	INCIDENCIAS
1	8						
2	9						
3	10						
4	11						
5	12						
6	13						
7	8						
8	9						
9	10						
10	11						
11	12						
12	13						
13	8						
14	9						
15	10						
16	11						
17	12						
18	13						
19	8						
20	9						
21	10						
22	11						
23	12						
24	13						
25	8						
26	9						
27	10						
28	11						
29	12						
30	13						
31	8						
32	9						
33	10						
34	11						
35	12						
36	13						
37	8						
38	9						
39	10						
40	11						
41	12						
42	13						
43	8						
44	9						
45	10						
46	11						
47	12						
48	13						

Anexo 2

Hoja de registro de Natación Forzada (FST)

RATA	TIEMPO INMOV 1	TIEMPO INMOV 2	INCIDENCIAS
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
32			
33			
34			
35			
36			
37			
38			
39			
40			
41			
42			
43			
44			
45			
46			
47			
48			