

Discriminación en el condicionamiento del sobresalto potenciado por el miedo en humanos

Pinto, Jorge A*,^a; Becerra, Sebastián A^b

Artículo Original

Resumen	Abstract	Tabla de Contenido
<p>En un experimento de sobresalto potenciado por el miedo, los participantes fueron entrenados en una tarea de discriminación donde una imagen A se emparejó con un pulso eléctrico, mientras que otra imagen, B, se presentó por sí sola (i.e., A+ B-). En una prueba, la respuesta de sobresalto, medida como parpadeo, fue evaluada al presentar un soplo de aire o un ruido blanco en presencia o ausencia de las imágenes A y B. Los resultados muestran un mayor parpadeo al soplo de aire en presencia de A que en presencia de B, y en ausencia de cualquier estímulo, solo en aquellos participantes que percibieron el pulso eléctrico como altamente doloroso. En conclusión, estos hallazgos sugieren que el miedo condicionado se relaciona linealmente con la intensidad del pulso eléctrico.</p>	<p>Discrimination in Fear-Potentiated Startle Conditioning in Humans. In a fear-potentiated startle experiment, participants were trained in a discrimination task where image A was paired with an electrical pulse, while another image, B, presented itself (i.e., A+ B-). In a test, the startle response, measured as an eyeblink, was evaluated by presenting an air-puff or white noise in the presence or absence of images A and B. The results show a greater eyeblink to the air-puff in the presence of A than in the presence of B, and in the absence of any stimulus, only in those participants who perceived the electrical pulse as highly painful. In conclusion, these findings suggest that conditioned fear is linearly related to the intensity of the electrical pulse.</p>	<p>Introducción 14 Método 16 Participantes 16 Aparatos 16 Procedimiento 17 Análisis estadísticos 17 Resultados 17 Discusión 19 Agradecimientos 21 Referencias 21</p>
<p><i>Palabras clave:</i> condicionamiento del miedo, discriminación, sobresalto, intensidad del estímulo incondicionado.</p>	<p><i>Keywords:</i> fear conditioning, discrimination, startle, intensity of unconditioned stimulus.</p>	

Recibido el 31 de enero de 2020; Aceptado el 6 de agosto de 2020.

Editaron este artículo: Ángel Elgier, Paula Abate, Sebastián Miranda y Yanina Michelini.

Introducción

Las respuestas de miedo o ansiedad son críticas para la supervivencia de cualquier animal. El miedo es un estado de aprehensión que generalmente es adaptativo el cual comienza y se disipa rápidamente una vez que se elimina la amenaza (miedo fásico; Davis, Walker, Miles, & Grillon, 2010). La ansiedad es un estado de aprehensión más prolongado (miedo sostenido) que es provocada por amenazas menos específicas y predecibles, o por aquellas que están más alejadas física o psicológicamente. Si bien el miedo y la ansiedad están programados genéticamente, también pueden ser aprendidas a través del condicionamiento Pavloviano. Un

ejemplo de esto es el condicionamiento del miedo.

En el condicionamiento del miedo un estímulo condicionado emocionalmente neutral (EC; e.g., una luz) es emparejado con un estímulo incondicionado aversivo (EI; e.g., pulso eléctrico). Como resultado el EC es capaz de provocar una respuesta de miedo que se manifiesta a través de distintos indicadores, tales como variaciones en la conductancia de la piel (e.g., Haesen, Beckers, Baeyens, & Vervliet, 2017), cambios en el ritmo cardíaco (e.g., Smith, Bradley, & Lang, 2005), inmovilidad (e.g., Blanchard & Blanchard, 1969), dilatación de la pupila (e.g., Reinhard, Lachnit, & König, 2006), entre otros. No obstante, este tipo

^a Universidad de Talca, Facultad de Psicología, Talca, Chile.

^b Universidad Santo Tomás, Facultad de Ciencias Sociales, Escuela de Psicología, Talca, Chile.

*Enviar correspondencia a: Pinto, J. A. E-mail: jpinto@utalca.cl

Citar este artículo como: Pinto, J. A., & Becerra, S. A. (2021). Discriminación en el condicionamiento de sobresalto potenciado por el miedo en humanos. *Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento*, 13(2), 14-23.

de aprendizaje también puede ser muy poco adaptativo como en el caso de los trastornos de ansiedad (e.g., [Dunsmoor & Paz, 2015](#)). Estos últimos se observan en personas que presentan reacciones de miedo a estímulos que no representan peligro alguno para la mayoría ([Lissek, Powers et al., 2005](#)).

Además de estas medidas, los investigadores han desarrollado procedimientos para medir indirectamente el miedo y uno de los más importantes es el sobresalto potenciado por el miedo. Este procedimiento fue introducido originalmente por Brown, Kalish y Farber (1951) quienes reportaron que los emparejamientos de una luz (EC) con un choque eléctrico (EI) en ratas resultaron en un aumento en la amplitud de la respuesta de sobresalto a una explosión de ruido blanco cuando la prueba se realizó en presencia de la luz que cuando se realizó en presencia del ruido solo. Desde entonces, el paradigma ha sido estudiado exhaustivamente tanto en animales como humanos con protocolos muy similares ([Davis, 2001](#); [Fendt & Koch, 2013](#); [Grillon & Baas, 2003](#)) utilizando ya sea estímulos condicionados de naturaleza auditiva ([Asli & Flaten, 2012](#)) o visual ([Lissek et al., 2008](#)) y con estímulos provocadores de sobresalto auditivos (e.g., sonido fuerte, [Norrholm et al., 2014](#)) o táctiles (e.g., soplo de aire, [Lissek, Baas et al., 2005](#)).

El sobresalto potenciado se ha convertido en un modelo para el entendimiento de las bases neurobiológicas y conductuales del miedo condicionado en humanos y ha adquirido un valor traslacional debido a su similitud con los síntomas que se usan para diagnosticar trastornos de ansiedad en poblaciones clínicas (e.g., [Grillon, 2008](#); [Lissek, Powers et al., 2005](#); [Lissek, 2012](#)). A nivel neurobiológico se ha establecido que la amígdala es la estructura responsable de las reacciones de miedo aprendidas e innatas ([Davis et al., 2010](#); [Hitchcock & Davis, 1986](#)). Específicamente se ha determinado que el núcleo central de la amígdala es la estructura responsable del miedo fásico mientras que el núcleo del lecho de la estría terminal está asociado a las respuestas de ansiedad o miedo sostenido, una parte de lo que ha sido denominado amígdala extendida ([Davis et al., 2010](#); [LeDoux & Pine, 2016](#); [Walker, Toufexis, & Davis, 2003](#)). A nivel conductual los investigadores han dirigido su atención a examinar las condiciones bajo las cuales el sobresalto

potenciado se adquiere (e.g., [Grillon & Davis, 1997](#)), se extingue (e.g., [Fani et al., 2015](#)) y se generaliza a otros estímulos (e.g., [Lissek et al., 2008](#)), siendo el aprendizaje discriminativo con ECs que pertenecen a la misma modalidad sensorial uno de los procedimientos de adquisición del miedo más utilizados con humanos (e.g., figuras geométricas, [Baas et al., 2014](#); [Ballard et al., 2014](#); [Borelli, Ruiz, Crowley, Mayes, De los Reyes, & Lewin, 2015](#); luces de distintos colores, [Ameli & Grillon, 2001](#); [Baas, Nugent, Lissek, Pine, & Grillon, 2004](#); [Grillon & Davis, 1997](#); y sonidos, [Asli, Kulvedrøsten, Solbakken, & Flaten, 2009](#); [Asli & Flaten, 2012](#)).

En el aprendizaje discriminativo se examina, por ejemplo, si la respuesta de sobresalto al soplo de aire en presencia de un EC emparejado con un EI (designado como A) es mayor que al soplo de aire solo (ITI) y al soplo de aire en presencia de un EC no emparejado con el EI (designado como B; e.g., [Lissek, Kaczurkin, Rabin, Geraci, Pine, & Grillon, 2014](#)). Varios estudios han demostrado aprendizaje diferencial con este procedimiento; es decir, el sobresalto al soplo de aire en presencia de A es mayor que en ambos, al soplo de aire solo y al soplo de aire en presencia de B ([Glenn, Lieberman, & Hajcak, 2012](#); [Grillon, 2002](#); [Lissek et al., 2008](#); [Lissek et al., 2010](#); [Lissek et al., 2014](#); [Torrents-Rodas et al., 2014](#)). Además, se ha observado en algunos de estos estudios que el sobresalto en la presencia de B también fue mayor en comparación con el soplo de aire solo especialmente en poblaciones clínicas ([Grillon & Morgan, 1999](#); [Lindner et al., 2015](#); [Lissek et al., 2009](#)), probablemente debido a la generalización de A.

Dado que el procedimiento de sobresalto potenciado es una herramienta útil para la comprensión de los vínculos hipotéticos entre el condicionamiento del miedo y los trastornos de ansiedad ([Beckers, Kryptos, Boddez, Effting, & Kindt, 2013](#); [Boddez et al., 2012](#); [Boddez, Baeyens, Hermans, & Beckers, 2013](#)), el principal objetivo de este estudio fue establecer las condiciones bajo las cuales es posible observar el sobresalto potenciado por el miedo en humanos a través de un procedimiento de aprendizaje discriminativo. Para esto nosotros utilizamos una situación experimental similar a la propuesta por [Lissek et al. \(2008\)](#) consistente en un entrenamiento de discriminación con imágenes donde los participantes tenían que aprender que

una determinada imagen (A) predecía la aparición del estímulo incondicionado (pulso eléctrico) mientras que otra imagen (B) predecía su ausencia, es decir se presentó sin el estímulo incondicionado. En una fase de prueba posterior, los participantes recibieron distintos estímulos provocadores de sobresalto (soplo de aire y ruido) durante la presentación de las imágenes del entrenamiento. Esperábamos encontrar una mayor amplitud del sobresalto al soplo de aire y ruido cuando ambos fueran precedidos por el estímulo A que en su ausencia (ITI), es decir, condicionamiento del miedo. Además, esperábamos encontrar evidencia de aprendizaje discriminativo en la forma de un mayor sobresalto al estímulo A que al estímulo B. Adicionalmente, incluimos en nuestro protocolo de prueba dos estímulos provocadores de sobresalto, uno usado comúnmente en procedimientos de condicionamiento del miedo, el ruido blanco (e.g., [Grillon & Davis, 1997](#)) y otro menos usado, el soplo de aire, cuya principal ventaja es su potencial aplicabilidad en distintas poblaciones tales como niños/as o pacientes psiquiátricos ([Lissek, Baas et al., 2005](#)).

Método

Participantes

Un total de 17 estudiantes de la Universidad de Talca participaron en el experimento para obtener créditos académicos, correspondientes a 13 mujeres y 4 hombres cuyas edades fluctuaron entre los 19 a 24 años. Los participantes firmaron un consentimiento informado aprobado por el Comité Ético Científico (CEC) de la Universidad de Talca.

Aparatos

Las sesiones experimentales fueron ejecutadas en una sala experimental de 2.5 x 2.76 x 2.4 metros acústicamente aislada. La presentación de los estímulos y la recolección de los datos se hizo bajo el control de un equipo localizado en una habitación adyacente (National Instruments PXIe-8135 Core i7-3610QE 2.3 GHz).

Los estímulos condicionados fueron imágenes de 8 s de duración consistentes en circunferencias de color blanco que en su interior poseen barras verticales u horizontales de color negro. Las imágenes de las circunferencias fueron presentadas sobre un fondo gris en el centro de una pantalla plana de un computador DELL de 20"

de 1920 x 1080 píxeles de resolución. Los estímulos fueron desplegados en la pantalla ocupando aproximadamente 5 grados de ángulo visual. El estímulo incondicionado fue un pulso eléctrico de 0.2 ms de duración producido por un generador de corriente constante (Digitimer 7a), administrado en la parte anterior de la muñeca derecha a través de dos electrodos de disco de plata. La intensidad del estímulo fue calibrada junto con los participantes y el rango de intensidades varió entre 1.3 y 8.4 mA ($M = 3.98$, $DE = 1.89$). Los participantes describieron este estímulo como incómodo, pero tolerable.

Como estímulos de prueba provocadores de sobresalto utilizamos un soplo de aire (40 ms, 15 psi) producido por un compresor de aire administrado al centro del hueso cigomático del lado derecho de la cara, a través de un tubo de cobre con un diámetro de 2 mm conectado a una manguera de plástico. El largo total desde el solenoide al punto de liberación del aire fue de 371 cm. También utilizamos un estímulo auditivo consistente en un ruido blanco (90 dB, 40 ms) administrado a través de audífonos PHILIPS SHS5200.

El componente de parpadeo de la respuesta de sobresalto fue registrado mediante la actividad electromiográfica (EMG) utilizando 3 electrodos Ag-AgCl rellenos con un gel de electrolitos estándar. Los dos electrodos fueron ubicados en el músculo orbicularis oculi del ojo izquierdo, 1 cm por debajo de la pupila y 1.5 cm lateral. Un tercer electrodo de referencia fue localizado en el mastoide izquierdo ([Blumenthal et al., 2005](#)). La señal de EMG fue registrada en base a una tasa de muestreo de 512 Hz utilizando un amplificador gTec USBamp y transmitida a un controlador integrado para la sincronización y almacenamiento. Para calcular la magnitud del parpadeo, los datos muestreados fueron importados offline en formato Matlab ([The Math Works Inc., 2020](#)) y se utilizaron scripts personalizados y las herramientas EEGLAB ([Delorme & Makeig, 2004](#)) y ERPLAB ([Lopez-Calderon & Luck, 2014](#)). Los datos continuos de EMG fueron filtrados por pasabanda de 0.1 - 30 Hz con un filtro de Butterworth de segundo orden y segmentados desde 500 ms pre-estímulo a 335 ms post-estímulo (ventana de respuesta). Un período de línea base fue cuantificada como el promedio del voltaje dentro de una sub-ventana pre-estímulo desde -100 a 0 ms. Las ventanas de

respuesta fueron sustraídas desde el periodo de línea base para su corrección. Este método asegura que la amplitud de la respuesta durante su ventana es medida con respecto al promedio del voltaje de la línea base y no en relación con un voltaje de cero. Luego, se utilizó la herramienta ERPLAB para detectar los valores máximos durante la ventana de respuesta para cada ensayo. Esta herramienta detecta los valores máximos definidos como el valor muestreado que es mayor que el promedio de 3 muestras (6 ms) al lado izquierdo y derecho de esta. Si se detecta más de un valor máximo en la ventana de respuesta, el algoritmo selecciona el más alto. Si no se detectan valores máximos, el ensayo es excluido del estudio. Además, los ensayos incluidos en este análisis (ensayos válidos) fueron aquellos donde el inicio de la respuesta de parpadeo está dentro de la ventana de respuesta (no más temprano).

En adición a este procedimiento automatizado, el voltaje durante la línea base y la ventana de respuesta de cada ensayo fue graficada en función del tiempo. El objetivo fue detectar y excluir visualmente los ensayos contaminados por el ruido de la línea base, y/o artefactos causados por los movimientos de los participantes. El observador que desempeñó este procedimiento fue ciego con respecto a las condiciones experimentales asignadas para cada ensayo.

Procedimiento

La **Tabla 1** muestra el diseño del experimento el cual fue inspirado en la propuesta de Lissek et al. (2008). El experimento se desarrolló en una sesión de dos fases: entrenamiento y prueba. En el entrenamiento, los participantes recibieron como estímulos condicionados una imagen A de 8 s emparejada con un pulso eléctrico de 0.2 ms (EI) en el 75% de los ensayos, es decir en 12 de un total de 16 ensayos, y 16 ensayos de otra imagen B de 8 s presentada sin el pulso eléctrico. El pulso eléctrico se presentó a los 7900 ms luego del inicio de la imagen A. Los estímulos A y B fueron las imágenes de circunferencias con barras verticales u horizontales respectivamente.

Al final de este entrenamiento, los participantes recibieron una serie de ensayos de prueba en los cuales la respuesta de parpadeo al soplo de aire y al ruido fue examinada en la presencia de A y B o cuando el soplo de aire o

ruido fueron presentados por sí solos (ITI). Con el fin de prevenir la extinción del miedo condicionado (Lissek et al., 2008), el entrenamiento discriminativo continuó durante la prueba y el estímulo A fue emparejado con el pulso eléctrico el 50% de los ensayos. Los estímulos de prueba (aire y ruido) fueron presentados en orden pseudo-aleatorio a los 2, 4 y 6 s después del inicio del estímulo condicionado en el caso de A y B, o después del inicio de 8 s del “ensayo blanco” en el caso del tipo soplo de aire-solo y ruido-solo (ITI). Cada tipo de ensayo de prueba (A+_{aire} A_{aire} B_{aire} ITI_{aire} A+_{ruido} A_{ruido} B_{ruido} ITI_{ruido}, donde “+” indica la presentación del pulso eléctrico) se repitió 9 veces totalizando 72 ensayos de prueba. El intervalo entre ensayos del entrenamiento y la prueba varió aleatoriamente entre 10, 15 y 20 s.

Tabla 1.

Diseño del experimento.

Entrenamiento	Prueba
A+/- (12/4), B- (16)	A+ _{aire} (9), A- _{aire} (9), B- _{aire} (9), ITI _{aire} (9), A+ _{ruido} (9), A- _{ruido} (9), B- _{ruido} (9), ITI _{ruido} (9)

Nota. Las letras A y B representan los estímulos condicionados (EC) que fueron emparejados (+) o no (-) con un pulso eléctrico como estímulo incondicionado (EI). El estímulo A fue emparejado con el EI el 75% de los ensayos durante el entrenamiento y el 50% de los ensayos durante la prueba para prevenir la extinción del miedo condicionado. El número entre paréntesis indica la frecuencia de cada tipo de ensayo.

Análisis estadísticos

La significancia estadística de los efectos en la fase de prueba se evaluó mediante un análisis de varianza de diseño mixto (ANOVA) de 3 (tipo de ensayo: A, B, ITI) x 2 (estímulo de prueba: soplo de aire, ruido) con el promedio de la amplitud máxima de la respuesta de parpadeo como variable dependiente. Para cada condición experimental se eliminó el primer ensayo del análisis para evitar el efecto de la novedad del estímulo. Las comparaciones *post-hoc* fueron realizadas con la prueba de la diferencia mínima significativa (DMS). Los tamaños del efecto asociados a los factores se computaron a través de la eta cuadrada parcial.

Resultados

La **Figura 1** muestra la amplitud media de la respuesta de parpadeo en los ensayos de prueba con el soplo de aire (gráfico superior) y el ruido (gráfico inferior). En cuanto al estímulo de aire

(gráfico superior) se observa condicionamiento y generalización en la forma de una menor amplitud del parpadeo al aire solo (ITI) en comparación a cuando éste es presentado en conjunto con el estímulo A y el estímulo B, respectivamente. A pesar del grado de generalización, la amplitud del parpadeo al aire en presencia de A es mayor que en presencia de B lo cual refleja la existencia de discriminación. Respecto al estímulo de prueba ruido (gráfico inferior) se observa la presencia de discriminación y condicionamiento por cuanto la amplitud de parpadeo al estímulo A es mayor que al estímulo B y al aire solo, respectivamente. Aunque la amplitud del condicionamiento es menor que la observada al soplo de aire. Tampoco se observa un grado de generalización tal como ocurrió con el soplo de aire. Finalmente, se aprecia que la amplitud del parpadeo promedio es mayor en el aire que en el ruido.

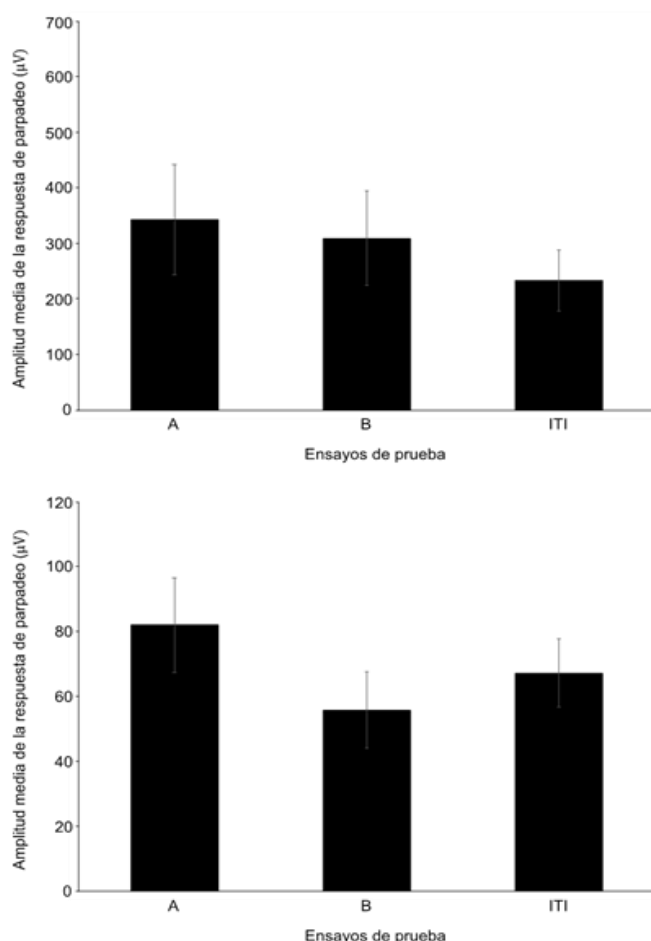


Figura 1. Amplitud media de la respuesta de parpadeo en los ensayos de prueba con el estímulo soplo de aire (gráfico superior) y ruido blanco (gráfico inferior). Las barras de error representan el error estándar de la media.

Los resultados del análisis confirmaron nuestras observaciones por cuanto el ANOVA mixto reveló un efecto principal del tipo de ensayo, $F(2, 32) = 5.540, p = .009, \eta_p^2 = .257$, un efecto de estímulo, $F(1, 16) = 9.336, p = .008, \eta_p^2 = .368$, y una interacción tipo de ensayo x estímulo, $F(2, 32) = 3.613, p = .038, \eta_p^2 = .184$. El efecto principal del tipo de ensayo reveló que la amplitud del parpadeo fue mayor al estímulo A que B ($p = .027$) e ITI ($p = .018$) y que no existen diferencias entre B e ITI ($p = .097$). El efecto principal de estímulo reveló que en promedio la amplitud del parpadeo es mayor al soplo de aire que el ruido. Respecto a la interacción, los efectos simples del estímulo soplo de aire en cada uno de los tipos de ensayo muestran condicionamiento, por cuanto la respuesta de parpadeo al estímulo A es mayor que la respuesta a ITI ($p = .042$) pero ausencia de discriminación ya que no difiere de B ($p = .065$). Además, existe generalización ya que B difiere de ITI ($p = .048$). Por el contrario, en el caso del estímulo ruido, no existen diferencias significativas entre los tipos de ensayos (p 's > .108).

Si bien los resultados revelan que globalmente existe una tendencia al condicionamiento y discriminación, la interacción revela que el primero sería solamente significativo en la presencia del aire y no del ruido, mientras que la discriminación está ausente en ambas condiciones. Sin embargo, dada las características de nuestro procedimiento experimental, existe una variabilidad importante en las intensidades del pulso eléctrico que los participantes definieron como incómodo pero tolerable. Una posibilidad es que los participantes que seleccionaron intensidades más bajas tuvieron menos probabilidad de mostrar potenciación o desarrollar miedo que aquellos que definieron intensidades más altas. Para explorar esta hipótesis, los participantes fueron clasificados según la mediana de la intensidad de 3.7 mA ($M = 3.98, DE = 1.89$), en sujetos que responden igual o mayor a la mediana los cuales fueron asignados al grupo de "Alta intensidad percibida" ($n = 10$) y sujetos que tienen una intensidad menor a la mediana los cuales fueron asignados al grupo de "Baja intensidad percibida" ($n = 7$).

La Figura 2 muestra la amplitud media de la respuesta de parpadeo en los ensayos de prueba con el soplo de aire (gráfico superior) y el ruido (gráfico inferior) según la intensidad del EI. En el caso del aire (gráfico superior), cuando se utilizaron intensidades altas del EI los participaron

mostraron aprendizaje discriminativo ($A > B$), condicionamiento ($A > ITI$) y cierto grado de generalización ($B > ITI$). Sin embargo y tal como se esperaba, con intensidades bajas del EI no existieron diferencias en las respuestas. En el gráfico inferior de la figura se presenta la amplitud del parpadeo al ruido y se observa discriminación y condicionamiento en ambas intensidades las cuales no se diferencian mayormente una de la otra.

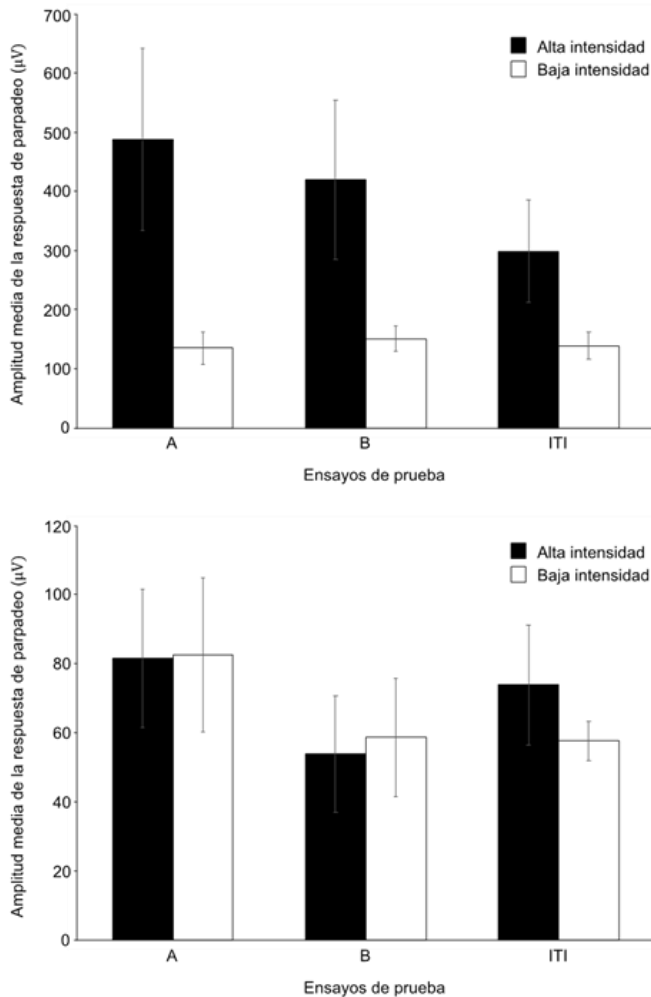


Figura 2. Amplitud media de la respuesta de parpadeo en los ensayos de prueba con el estímulo soplo de aire (gráfico superior) y ruido blanco (gráfico inferior) según la intensidad del EI (alta y baja). Las barras de error representan el error estándar de la media.

Los resultados del ANOVA mixto de 3 (tipo de ensayo: A, B, ITI) x 2 (estímulo de prueba: soplo de aire, ruido) x 2 (grupo: alta intensidad del EI, baja intensidad del EI) revelaron un efecto principal del tipo de ensayo, $F(2, 30) = 4.633$, $p = .018$, $\eta_p^2 = .236$, un efecto estímulo, $F(1, 15) = 8.395$, $p = .011$, $\eta_p^2 = .359$, y un efecto de

interacción triple, $F(2, 30) = 4.262$, $p = .023$, $\eta_p^2 = .221$. No hubo efectos de grupo, $F(1, 15) = 2.598$, $p = .128$, interacción grupo x estímulo $F(1, 15) = 3.337$, $p = .088$, ni grupo x tipo de ensayo $F(2, 30) = 3.035$, $p = .063$.

El efecto principal del tipo de ensayo reveló discriminación y condicionamiento por cuanto existió una mayor amplitud de respuesta al estímulo A en comparación a B ($p = .040$) y a ITI ($p = .026$), respectivamente, mientras que B e ITI no difieren entre sí ($p = .143$). El efecto principal de estímulo reveló que en promedio la amplitud del parpadeo es mayor a la prueba con el aire que a la prueba con el ruido. Respecto al efecto de interacción, los efectos simples del grupo de alta intensidad en cada uno de los niveles de los tipos de ensayo revelaron discriminación ($p = .002$), condicionamiento ($p = .006$) y generalización del miedo ($p = .015$) con el estímulo de prueba de aire, mientras que no hubo diferencias en la amplitud de las respuestas al estímulo de prueba de ruido (p 's $> .079$). Los efectos simples del grupo de baja intensidad en cada uno de los niveles de los tipos de ensayo no revelaron diferencias con el aire (p 's $> .452$) y contrario a nuestras observaciones, tampoco con el ruido (p 's $> .146$).

En conclusión, estos resultados indican la presencia de condicionamiento y discriminación solo con un estímulo de prueba táctil y cuando el protocolo de condicionamiento incluye un estímulo incondicionado percibido por los participantes como de alta intensidad.

Discusión

Nuestros hallazgos arrojan evidencia de condicionamiento de sobresalto potenciado por el miedo en humanos. Específicamente, mostramos que un estímulo condicionado visual adquiere propiedades aversivas producto de su emparejamiento con un estímulo incondicionado eléctrico, lo cual es consistente con la literatura (e.g., Baas et al., 2014; Borelli et al., 2015; Lissek et al., 2008). Además, observamos la presencia de este fenómeno con un estímulo incondicionado de alta intensidad.

Si bien la observación post-hoc de un efecto de potenciación del miedo en un grupo de alta intensidad del EI es consistente con una serie de estudios en animales que sugieren que el miedo se relaciona linealmente con la intensidad del EI (e.g., supresión de succión, Annau & Kamin, 1961;

escape-evitación, Boren, Sidman, & Herrnstein, 1959; inmovilidad, Morris & Bouton, 2006), también es cierto que existen datos que sugieren que el sobresalto potenciado puede lograrse con un EI menos aversivo, de tal manera que la relación miedo-intensidad del EI sería una función de U invertida con un mayor miedo a niveles intermedios del EI (e.g., Davis & Astrachan, 1978; Leaton & Borszcz, 1985), hallazgo que ha sido denominado la paradoja de la intensidad del EI (Ghirlanda & Ibadullayev, 2015).

El primer estudio que examinó la relación intensidad del EI-miedo potenciado fue realizado por Davis y Astrachan (1978) quienes entrenaron 4 grupos de ratas con una luz (EC) emparejada con un choque eléctrico (EI) que varió de intensidad en cada grupo (0.2 mA, 0.4 mA, 0.8 mA y 1.6 mA). Posteriormente, todos los animales fueron sometidos a una prueba en la cual se examinó la respuesta de sobresalto a un tono en la presencia o en la ausencia de la luz. Los resultados mostraron que el sobresalto potenciado (la diferencia entre el sobresalto a la luz- tono versus el tono presentado solo) se relacionó con la intensidad del EI de manera no-monotónica, con una mayor potenciación con niveles intermedios del EI (efecto de U invertida). Estos hallazgos han sido posteriormente replicados con la respuesta de sobresalto y extendidos a las respuestas de inmovilidad y supresión de la conducta de succión (Leaton & Borszcz, 1985; Luyten, Vansteenwegen, van Kuyck, Deckers, & Nuttin, 2011; Santos, Gárgaro, Oliveira, Masson, & Brandão, 2005; Witnauer & Miller, 2013).

En un segundo experimento, Davis y Astrachan (1978) plantearon que si los animales entrenados con choque eléctrico de alta intensidad desarrollaron un alto nivel de miedo condicionado y la carencia de efecto sobre el sobresalto ocurre debido a que hay una relación no-monotónica entre miedo y sobresalto, los animales del grupo de alta intensidad deberían manifestar potenciación del sobresalto si su nivel de miedo es reducido un poco. Una forma de reducir el miedo es mediante la extinción donde el EC se presenta sin el EI. Ellos esperaban que en algún punto durante la extinción las ratas del grupo de alta intensidad deberían mostrar un sobresalto potenciado a medida que el miedo se disipaba gradualmente de un nivel inicial demasiado alto para producir potenciación a un nivel óptimo. Con más pruebas de extinción el

sobresalto potenciado debería disminuir a medida que el miedo disminuye a un nivel demasiado bajo para aumentar el sobresalto. En otras palabras, las ratas del grupo de alta intensidad deberían mostrar una curva no-monotónica de potenciación en función del número de pruebas de extinción; poca potenciación inicial, potenciación sustancial en algún punto, seguida eventualmente por ausencia de potenciación. En contraste, las ratas entrenadas con una intensidad moderada deberían mostrar una simple disminución monotónica del sobresalto potenciado durante la extinción. Estas ratas deberían comenzar la extinción con un nivel moderado de miedo que es óptimo para potenciar el sobresalto. A partir de entonces, la potenciación del sobresalto debería disminuir a medida que el miedo disminuye hasta alcanzar un nivel demasiado bajo para potenciar el sobresalto. Tal como esperaban los resultados revelaron que un grupo entrenado con un choque eléctrico de alta intensidad (1.6 mA) mostró una curva de extinción no-monotónica donde la potenciación aumentó progresivamente en el punto medio de la extinción y se disipó posteriormente, mientras que un grupo entrenado con una intensidad moderada del choque eléctrico (0.4 mA) mostró una disminución gradual del sobresalto potenciado en el curso de la extinción.

Sin embargo, a diferencia del primer experimento, los hallazgos del Experimento 2 de Davis y Astrachan (1978) no han sido replicados (Leaton & Borszcz, 1985) y pese a su importancia, la paradoja de la intensidad del EI no se ha podido investigar sistemáticamente en humanos posiblemente por razones prácticas y éticas especialmente en niños(as), adolescentes y pacientes psiquiátricos (Glenn et al., 2012; Grillon & Ameli, 1998).

El efecto de la paradoja de la intensidad del EI nos sugiere que es posible diseñar un protocolo experimental con un pulso eléctrico de menor intensidad capaz de provocar una potenciación del sobresalto robusta. De ser cierta esta complejidad representa una oportunidad para estudiar el fenómeno de la potenciación con un estímulo incondicionado menos aversivo pero capaz de provocar miedo, lo cual es preferible dada las restricciones éticas para su uso en individuos de distintas poblaciones (Glenn et al., 2012). Futuras investigaciones podrían explorar esta posibilidad.

Finalmente, una limitación del presente estudio es que el efecto de potenciación del

sobresalto ocurrió solamente con un estímulo de prueba táctil y no auditivo. Esto contradice la mayoría de los estudios realizados con humanos, donde es habitual el provocar sobresalto con un estímulo auditivo (e.g., Ameli & Grillon, 2001; Dunning & Hajcak, 2015; Jovanovic et al., 2005). Posiblemente, esto se debió al uso de un estímulo auditivo con una intensidad insuficiente para elicitarlo (en nuestro estudio 90 dB; mientras que en la mayoría de los estudios se utilizan intensidades por sobre los 100 dB, e.g., Grillon & Davis, 1997) lo cual es consistente con nuestros datos puesto que existió una mayor respuesta promedio de sobresalto al aire que al ruido.

Agradecimientos

El presente estudio fue financiado por el proyecto Fondecyt N°1160601 de Edgar Vogel y por el PIA Ciencia Cognitiva, Centro de Investigación en Ciencias Cognitivas, Facultad de Psicología, Universidad de Talca. Los estudios de postgrado de Jorge Pinto fueron financiados por CONICYT (CONICYT-PFCHA/Doctorado Nacional/2017-21171681).

Referencias

- Ameli, R., & Grillon, C. (2001). Contextual fear-potentiated startle conditioning in humans: Replication and extension. *Psychophysiology*, 38(3), 383-390. doi: 10.1111/1469-8986.3830383
- Annau, Z., & Kamin, L. J. (1961). The Conditioned Emotional Response as a Function of Intensity of the US. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 54(4), 428-432. doi: 10.1037/h0042199
- Asli, O., & Flaten, M. A. (2012). How fast is fear? Automatic and controlled processing in conditioned fear. *Journal of Psychophysiology*, 26(1), 20-28. doi: 10.1027/0269-8803/a000063
- Asli, O., Kulvedrøsten, S., Solbakken, L. E., & Flaten, M. A. (2009). Fear potentiated startle at short intervals following conditioned stimulus onset during delay but not trace conditioning. *Psychophysiology*, 46(4), 880-888. doi: 10.1111/j.1469-8986.2009.00809.x
- Baas, J. M., Klumpers, F., Mantione, M. H., Figees, M., Vulink, N. C., Schuurman, P. R., ... Denys, D. (2014). No impact of deep brain stimulation on fear-potentiated startle in obsessive-compulsive disorder. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(305), 1-9. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00305
- Baas, J. M., Nugent, M., Lissek, S., Pine, D. S., & Grillon, C. (2004). Fear Conditioning in Virtual Reality Contexts: A New Tool for the Study of Anxiety. *Biological Psychiatry*, 55(11), 1056-1060. doi: 10.1016/j.biopsych.2004.02.024
- Ballard, E. D., Ionescu, D. F., Voort, J. L. V., Slonena, E. E., Franco-Chaves, J. A., Zarate Jr, C. A., & Grillon, C. (2014). Increased fear-potentiated startle in major depressive disorder patients with lifetime history of suicide attempt. *Journal of Affective Disorders*, 162, 34-38. doi: 10.1016/j.jad.2014.03.027
- Beckers, T., Krypotos, A. M., Boddez, Y., Eftting, M., & Kindt, M. (2013). What's wrong with fear conditioning? *Biological Psychology*, 92(1), 90-96. doi: 10.1016/j.biopsycho.2011.12.015
- Blanchard, R. J., & Blanchard, D. C. (1969). Crouching as an index of fear. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 67(3), 370-375. doi: 10.1037/h0026779
- Blumenthal, T. D., Cuthbert, B. N., Filion, D. L., Hackley, S., Lipp, O. V., & Van Boxtel, A. (2005). Committee report: Guidelines for human startle eyeblink electromyographic studies. *Psychophysiology*, 42(1), 1-15. doi: 10.1111/j.1469-8986.2005.00271.x
- Boddez, Y., Baeyens, F., Hermans, D., & Beckers, T. (2013). Reappraisal of threat value: Loss of blocking in human aversive conditioning. *The Spanish Journal of Psychology*, 16, 1-10. doi: 10.1017/sjp.2013.84
- Boddez, Y., Vervliet, B., Baeyens, F., Lauwers, S., Hermans, D., & Beckers, T. (2012). Expectancy bias in a selective conditioning procedure: Trait anxiety increases the threat value of a blocked stimulus. *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry*, 43(2), 832-837. doi: 10.1016/j.jbtep.2011.11.005
- Borelli, J. L., Ruiz, S. K., Crowley, M. J., Mayes, L. C., De los Reyes, A., & Lewin, A. B. (2015). Children's obsessive compulsive symptoms and fear-potentiated startle responses. *Journal of Obsessive-Compulsive and Related Disorders*, 6, 101-107. doi: 10.1016/j.jocrd.2015.06.006
- Boren, J. J., Sidman, M., & Herrnstein, R. J. (1959). Avoidance, escape, and extinction as functions of shock intensity. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 52(4), 420-425. doi: 10.1037/h0042727
- Brown, J. S., Kalish, H. I., & Farber, I. E. (1951). Conditioned fear as revealed by magnitude of startle response to an auditory stimulus. *Journal of Experimental Psychology*, 41(5), 317-328. doi: 10.1037/h0060166
- Davis, M. (2001). Fear-potentiated startle in rats. *Current Protocols in Neuroscience*, 14(1), 1-11. doi: 10.1002/0471142301.ns0811as14
- Davis, M., & Astrachan, D. I. (1978). Conditioned fear and startle magnitude: effects of different footshock or backshock intensities used in training. *Journal of*

- Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 4(2), 95-103. doi: 10.1037/0097-7403.4.2.95
- Davis, M., Walker, D. L., Miles, L., & Grillon, C. (2010). Phasic vs sustained fear in rats and humans: Role of the extended amygdala in fear vs anxiety. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 105-135. doi: 10.1038/npp.2009.109.
- Delorme, A., & Makeig, S. (2004). EEGLAB: An open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. *Journal of Neuroscience Methods*, 134(1), 9-21. doi: 10.1016/j.jneumeth.2003.10.009
- Dunning, J. P., & Hajcak, G. (2015). Gradients of fear potentiated startle during generalization, extinction, and extinction recall—and their relations with worry. *Behavior Therapy*, 46(5), 640-651. doi: 10.1016/j.beth.2015.06.005
- Dunsmoor, J. E., & Paz, R. (2015). Fear generalization and anxiety: behavioral and neural mechanisms. *Biological Psychiatry*, 78(5), 336-343. doi: 10.1016/j.biopsych.2015.04.010
- Fani, N., King, T. Z., Brewster, R., Srivastava, A., Stevens, J. S., Glover, E. M., ... Jovanovic, T. (2015). Fear-potentiated startle during extinction is associated with white matter microstructure and functional connectivity. *Cortex*, 64, 249-259. doi: 10.1016/j.cortex.2014.11.006
- Fendt, M., & Koch, M. (2013). Translational value of startle modulations. *Cell and Tissue Research*, 354(1), 287-295. doi: 10.1007/s00441-013-1599-5
- Ghirlanda, S., & Ibadullayev, I. (2015). Solution of the Comparator Theory of Associative Learning. *Psychological Review*, 122(2), 242-259. doi: 10.1037/a0038694
- Glenn, C. R., Lieberman, L., & Hajcak, G. (2012). Comparing electric shock and a fearful screaming face as unconditioned stimuli for fear learning. *International Journal of Psychophysiology*, 86(3), 214-219. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2012.09.006
- Grillon, C. (2002). Associative learning deficits increase symptoms of anxiety in humans. *Biological Psychiatry*, 51(11), 851-858. doi: 10.1016/S0006-3223(01)01370-1
- Grillon, C. (2008). Models and mechanisms of anxiety: Evidence from startle studies. *Psychopharmacology*, 199(3), 421-437. doi: 10.1007/s00213-007-1019-1
- Grillon, C., & Ameli, R. (1998). Effects of threat and safety signals on startle during anticipation of aversive shocks, sounds, or airblasts. *Journal of Psychophysiology*, 12(4), 329-337.
- Grillon, C., & Baas, J. (2003). A review of the modulation of the startle reflex by affective states and its application in psychiatry. *Clinical Neurophysiology*, 114(9), 1557-1579. doi: 10.1016/S1388-2457(03)00202-5
- Grillon, C., & Davis, M. (1997). Fear-potentiated startle conditioning in humans: Explicit and contextual cue conditioning following paired versus unpaired training. *Psychophysiology*, 34(4), 451-458. doi: 10.1111/j.1469-8986.1997.tb02389.x
- Grillon, C., & Morgan III, C. A. (1999). Fear-potentiated startle conditioning to explicit and contextual cues in Gulf War veterans with posttraumatic stress disorder. *Journal of Abnormal Psychology*, 108(1), 134-142. doi: 10.1037/0021-843X.108.1.134
- Haesen, K., Beckers, T., Baeyens, F., & Vervliet, B. (2017). One-trial overshadowing: Evidence for fast specific fear learning in humans. *Behaviour Research and Therapy*, 90, 16-24. doi: 10.1016/j.brat.2016.12.001
- Hitchcock, J., & Davis, M. (1986). Lesions of the amygdala, but not of the cerebellum or red nucleus, block conditioned fear as measured with the potentiated startle paradigm. *Behavioral Neuroscience*, 100(1), 11-22. doi: 10.1037/0735-7044.100.1.11
- Jovanovic, T., Keyes, M., Fiallos, A., Myers, K. M., Davis, M., & Duncan, E. J. (2005). Fear potentiation and fear inhibition in a human fear-potentiated startle paradigm. *Biological Psychiatry*, 57(12), 1559-1564. doi: 10.1016/j.biopsych.2005.02.025
- Leaton, R. N., & Borszcz, G. S. (1985). Potentiated startle: Its relation to freezing and shock intensity in rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 11(3), 421-428. doi: 10.1037/0097-7403.11.3.421
- LeDoux, J. E., & Pine, D. S. (2016). Using neuroscience to help understand fear and anxiety: A two-system framework. *The American Journal of Psychiatry*, 173(11), 1083-1093. doi: 10.1176/appi.ajp.2016.16030353
- Lindner, K., Neubert, J., Pfannmöller, J., Lotze, M., Hamm, A. O., & Wendt, J. (2015). Fear-potentiated startle processing in humans: parallel fMRI and orbicularis EMG assessment during cue conditioning and extinction. *International Journal of Psychophysiology*, 98(3), 535-545. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2015.02.025
- Lissek, S. (2012). Toward an Account of Clinical Anxiety Predicated on Basic, Neurally-Mapped Mechanisms of Pavlovian Fear-Learning: The Case for Conditioned Overgeneralization. *Depression & Anxiety*, 29(4), 257-263. doi: 10.1002/da.21922
- Lissek, S., Baas, J. M., Pine, D. S., Orme, K., Dvir, S., Nugent, M., ... Grillon, C. (2005). Airpuff startle probes: An efficacious and less aversive alternative to white-noise. *Biological Psychology*, 68(3), 283-297. doi: 10.1016/j.biopsycho.2004.07.007
- Lissek, S., Biggs, A. L., Rabin, S. J., Cornwell, B. R., Alvarez, R. P., Pine, D. S., & Grillon, C. (2008). Generalization of conditioned fear-potentiated

- startle in humans: Experimental validation and clinical relevance. *Behaviour Research and Therapy*, 46(5), 678-687. doi: 10.1016/j.brat.2008.02.005
- Lissek, S., Kaczurkin, A. N., Rabin, S., Geraci, M., Pine, D. S., & Grillon, C. (2014). Generalized anxiety disorder is associated with overgeneralization of classically conditioned fear. *Biological Psychiatry*, 75(11), 909-915. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.07.025
- Lissek, S., Powers, A. S., McClure, E. B., Phelps, E. A., Woldehawariat, G., Grillon, C., & Pine, D. S. (2005). Classical fear conditioning in the anxiety disorders: A meta-analysis. *Behaviour Research and Therapy*, 43(11), 1391-1424. doi: 10.1016/j.brat.2004.10.007
- Lissek, S., Rabin, S., Heller, R. E., Lukenbaugh, D., Geraci, M., Pine, D. S., ... Grillon, C. (2010). Overgeneralization of conditioned fear as a pathogenic marker of panic disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 167(1), 47-55. doi: 10.1176/appi.ajp.2009.09030410
- Lissek, S., Rabin, S. J., McDowell, D. J., Dvir, S., Bradford, D. E., Geraci, M., ... Grillon, C. (2009). Impaired discriminative fear-conditioning resulting from elevated fear responding to learned safety cues among individuals with panic disorder. *Behaviour Research and Therapy*, 47(2), 111-118. doi: 10.1016/j.brat.2008.10.017
- Lopez-Calderon, J., & Luck, S. J. (2014). ERPLAB: an open-source toolbox for the analysis of event-related potentials. *Frontiers in Human Neuroscience*, 8(213), 1-14. doi: 10.3389/fnhum.2014.00213
- Luyten, L., Vansteenwegen, D., van Kuyck, K., Deckers, D., & Nuttin, B. (2011). Optimization of a contextual conditioning protocol for rats using combined measurements of startle amplitude and freezing: The effects of shock intensity and different types of conditioning. *Journal of Neuroscience Methods*, 194(2), 305-311. doi: 10.1016/j.jneumeth.2010.11.005
- Morris, R. W., & Bouton, M. E. (2006). Effect of unconditioned stimulus magnitude on the emergence of conditioned responding. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 32(4), 371-385. doi: 10.1037/0097-7403.32.4.371
- Norrholm, S. D., Jovanovic, T., Briscione, M. A., Anderson, K. M., Kwon, C. K., Warren, V. T., ... Bradley, B. (2014). Generalization of fear-potentiated startle in the presence of auditory cues: a parametric analysis. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(361), 1-10. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00361
- Reinhard, G., Lachnit, H., & König, S., (2006). Tracking stimulus processing in Pavlovian pupillary conditioning. *Psychophysiology*, 43(1), 73-83. doi: 10.1111/j.1469-8986.2006.00374.x.
- Santos, J. M., Gárgaro, A. C., Oliveira, A. R., Masson, S., & Brandão, M. L. (2005). Pharmacological dissociation of moderate and high contextual fear as assessed by freezing behavior and fear-potentiated startle. *European Neuropsychopharmacology*, 15(2), 239-246. doi: 10.1016/j.euroneuro.2004.10.004
- Smith, J. C., Bradley, M. M., & Lang, P. J. (2005). State anxiety and affective physiology: Effects of sustained exposure to affective pictures. *Biological Psychology*, 69(3), 247-260. doi: 10.1016/j.biopsycho.2004.09.001
- The Math Works Inc. (2020). *MATLAB* (Version 2020a) [Computer software]. <https://www.mathworks.com/>
- Torrents-Rodas, D., Fullana, M. A., Bonillo, A., Andiñon, O., Molinuevo, B., Caseras, X., ... Torrubia, R. (2014). Testing the temporal stability of individual differences in the acquisition and generalization of fear. *Psychophysiology*, 51(7), 697-705. doi: 10.1111/psyp.12213
- Walker, D. L., Toufexis, D. J., & Davis, M. (2003). Role of the bed nucleus of the stria terminalis vs the amygdala in fear, stress, and anxiety. *European Journal of Pharmacology*, 463(1-3), 199-216. doi: 10.1016/s0014-2999(03)01282-2.
- Witnauer, J. E., & Miller, R. R. (2013). Conditioned suppression is an inverted-U function of footshock intensity. *Learning & Behavior*, 41(1), 94-106. doi: 10.3758/s13420-012-0088-0.