



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Estudio mediante resonancia magnética funcional y espectroscopía por resonancia magnética del condicionamiento aversivo en pacientes con trastorno obsesivo compulsivo

Ignacio Martínez Zalacaín

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Salut/ Bellvitge
Hospital Universitari



ESTUDIO MEDIANTE RESONANCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL Y ESPECTROSCOPIA POR RESONANCIA MAGNÉTICA DEL CONDICIONAMIENTO AVERSIVO EN PACIENTES CON TRASTORNO OBSESIVO COMPULSIVO

Memoria de tesis doctoral presentada por

Ignacio Martínez Zalacaín

para optar al grado de Doctor por la Universitat de Barcelona

Dirigida por:

Dr. Carles Soriano Mas^{a,b,c}

Dr. José M. Menchón Magriña^{a,b,d}

^a Grupo de Psiquiatría y Salud Mental, Programa de Neurociencias, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge - IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat

^b Centro de Investigación Biomédica en Red - Salud Mental (CIBERSAM), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid

^c Departamento de Psicología Social y Psicología Cuantitativa, Facultad de Psicología, Universitat de Barcelona - UB, Barcelona.

^d Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Medicina, Universitat de Barcelona - UB, L'Hospitalet de Llobregat.

Programa de Doctorado "Medicina e Investigación Traslacional"

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud

Universidad de Barcelona

Abril - 2023

Financiación

La presente tesis doctoral ha sido realizada gracias a la consecución por parte del doctorando de una beca predocotral P-FIS (FI17/00294) del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).

Asimismo, la estancia internacional fue financiada por una beca de movilidad M-AES (MV20/00041), vinculada al contrato predoctoral P-FIS, también del Instituto de Salud Carlos III.

Índice

Enumeración de los artículos	2
Thesis Summary	3
1. Introducción.....	6
1.1 Condicionamiento clásico	6
1.1.1 Tipos de condicionamiento	7
1.1.2 Fases del condicionamiento	11
1.1.3 Condicionamiento aversivo.....	13
1.1.3.1 Definición y relación con los trastornos de ansiedad	13
1.1.3.2 Tipos de estímulos aversivos y definición del umbral.....	15
1.2 Medidas utilizadas en el condicionamiento aversivo	16
1.2.1 Tasa de refuerzo y análisis habituales.....	16
1.2.1 Respuesta Electrodermal	17
1.2.2 Resonancia Magnética	20
1.2.2.1 Resonancia Magnética Funcional.....	21
1.2.2.2. Espectroscopía por Resonancia Magnética	24
1.3 Trastorno Obsesivo Compulsivo y su relación con el condicionamiento aversivo	27
1.3.1 Descripción de la patología	27
1.3.2 Terapia cognitivo-conductual.....	31
1.3.3 Biomarcadores predictores de respuesta a la terapia cognitivo-conductual	33
2. Hipótesis	35
3. Objetivos.....	36
4. Material, métodos y resultados	37
4.1 Artículo publicado 1	37
4.2 Artículo publicado 2	51
5. Discusión.....	60
5.1 Discusión global	60
5.2 Limitaciones y perspectivas de futuro	68
6. Conclusions	70
7. Bibliografía.....	71

Índice de tablas

Tabla 1.	15
Tabla 2.	32

Índice de figuras

Figura 1.....	9
Figura 2.....	11
Figura 3.....	14
Figura 4.....	20
Figura 5.....	24
Figura 6.....	26
Figura 7.....	29
Figura 8.....	29
Figura 9.....	68

Abreviaturas

CCAd	Corteza Cingulada Anterior Dorsal
CPFvm	Corteza Prefrontal Ventromedial
CR	Respuesta condicionada (<i>Conditioned Response</i>)
CS	Estímulo condicionado (<i>Conditioned Stimulus</i>)
CS-	Estímulo neutro
CS+	Estímulo condicionado asociado a estímulo incondicionado
CS+E	Estímulo condicionado extinguido
CS+U	Estímulo condicionado no extinguido
EDA	Respuesta electrodermal (<i>Electro Dermal Response</i>)
fMRI	Resonancia Magnética funcional (<i>functional Magnetic Resonance Imaging</i>)
GSR	Respuesta Galvánica de la piel (<i>Galvanic Skin Response</i>)
ISI	Intervalo entre estímulos (<i>Inter Stimulus Interval</i>)
ITI	Intervalo entre ensayos (<i>Inter Trial Interval</i>)
MR	Resonancia Magnética (<i>Magnetic Resonance</i>)
MRS	Espectroscopía por resonancia magnética (<i>Magnetic Resonance Spectroscopy</i>)
NMDA	N-metil-D-aspartato
SCL	Nivel de conductancia dermal (<i>Skin Conductance Level</i>)
SCR	Respuesta de la conductancia dermal (<i>Skin Conductance Response</i>)
SUDS	Escala de Unidades Subjetivas de Angustia (<i>Subjective Units of Distress Scale</i>)
TCC	Terapia Cognitivo-Conductual
TOC	Trastorno Obsesivo Compulsivo
UR	Respuesta Incondicionada (<i>Unconditioned Response</i>)
US	Estímulo Incondicionado (<i>Unconditioned Stimulus</i>)
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana

Enumeración de los artículos

Tesis en formato de compendio de publicaciones.

La tesis consta de 11 objetivos y dos artículos publicados.

A continuación, se citan los artículos, junto al orden en el cual serán referidos a lo largo de este documento:

Artículo 1: Giménez M, Cano M, **Martínez-Zalacaín I**, Real E, Alonso P, Segalàs C et al.; *Is glutamate associated with fear extinction and cognitive behavior therapy outcome in OCD? A pilot study*; Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2020 Dec;270(8):1003-1014. doi: 10.1007/s00406-019-01056-3. Epub 2019 Aug 20.

Factor de Impacto: 3,192

Cuartil: Q2

Artículo 2: Cano M (*), **Martínez-Zalacaín I (*)**, Giménez M, Torrents-Rodas D, Real E, Alonso P et al.; *Neural correlates of fear conditioning and fear extinction and its association with cognitive-behavioral therapy outcome in adults with obsessive-compulsive disorder*; Behav Res Ther. 2021 Sep;144:103927. doi: 10.1016/j.brat.2021.103927. Epub 2021 Jul 1

Factor de Impacto: 5,321

Cuartil: Q1

Thesis Summary

A functional magnetic resonance imaging and magnetic resonance spectroscopy study of fear conditioning in patients with obsessive-compulsive disorder

Introduction

Classical conditioning refers to an associative learning process that occurs when a neutral stimulus (CS) becomes associated with a biologically relevant unconditioned stimulus (US) that elicits an unconditioned response (UR). After multiple CS-US pairings, the CS becomes a conditioned stimulus (CS+) that elicits a conditioned response (CR) qualitatively similar to the UR. When the CS+ is repeatedly reintroduced without being paired with the US, the CS+ without US association is learned, and eventually, the CR declines. This process is called extinction learning. Extinction recall refers to the extinction learning retrieval after a period of time. These same stimuli and phases appear during fear conditioning processes, but with the particularity that the US is characterized by a negative valence that elicits a conditioned fear response. Regarding fear conditioning experimental paradigms, Electro Dermal Activity (EDA), a measure of physical arousal, is the ground truth measurement to evaluate fear conditioning processes in humans. In addition, functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) has recently become an essential neuroscientific tool to investigate fear brain networks during fear conditioning protocols. Likewise, several preclinical studies have established that fear conditioning processes are modulated by glutamatergic fear brain networks. Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS), a measure of brain biochemistry *in vivo*, may allow us to capture the brain glutamatergic modulation of fear conditioning in humans. Recent neurobiological models of obsessive-compulsive disorder (OCD) have suggested that fear conditioning abnormalities may account for OCD symptomatology, and have highlighted the relevance of evaluating fear brain networks. Importantly, cognitive-behavioral therapy (CBT) including exposure and response prevention is a first-line psychotherapy for patients with OCD and is based on the principles of fear conditioning.

Hypotheses

Patients with OCD would differ from healthy controls in skin conductance and brain activation during fear conditioning, as well as in glutamate concentration in the ventromedial prefrontal cortex (vmPFC). Moreover, vmPFC glutamate concentration would correlate with OCD severity and skin conductance responses during fear conditioning. Finally, brain activation and vmPFC glutamate concentration would be associated with CBT outcome in patients with OCD.

Aims

The overall aim of this thesis is to evaluate the neurobiological correlates of fear conditioning in patients with OCD, as well as their association with CBT outcome. Specifically, skin conductance and brain activation during fear conditioning, along with glutamate concentration in the vmPFC, will be compared between patients with OCD and healthy controls. In addition, the relationship between glutamate concentration in the vmPFC, OCD severity, and skin conductance responses during fear conditioning will be investigated. Lastly, brain measures (i.e., brain activation and vmPFC glutamate concentration) will be analyzed as potential predictive biomarkers of CBT response in patients with OCD.

Methods

Patients with OCD ($n = 18$) and healthy controls ($n = 18$) were evaluated by means of EDA and fMRI measures during a 2-day experimental fear conditioning paradigm (i.e., fear learning, fear extinction learning, and fear extinction recall), as well as using MRS to assess glutamate levels in the vmPFC. Patients with OCD ($n = 12$) were consecutively treated with CBT.

Main Results

Patients with OCD, in comparison to healthy controls, exhibited lower brain activation in the insula and the dorsal anterior cingulate cortex during fear learning. Glutamate concentration in the vmPFC was negatively associated with skin conductance responses during fear extinction recall and positively correlated with CBT response in patients with OCD. Moreover, brain activation in the insula was negatively associated with CBT response in patients with OCD.

Conclusions

Fear learning and fear extinction recall should be highlighted as relevant psychological phenomena related to OCD and CBT. Specifically, glutamate concentration in the vmPFC appears to modulate fear extinction recall processes in patients with OCD. In addition, brain activation during fear learning may constitute a potential diagnostic biomarker of OCD. Interestingly, glutamate concentration in the vmPFC and brain activation in the insula during fear learning can help predict CBT response in patients with OCD.

1. Introducción

El aprendizaje se refiere al cambio relativamente permanente que se experimentan en los mecanismos de conducta resultado de la experiencia con los eventos ambientales. De manera general, el aprendizaje explícito (o consciente) es flexible y puede guiar el comportamiento en diferentes contextos mientras que el aprendizaje implícito (o inconsciente) está más rígidamente organizado. Ciertamente uno de los factores característicos del condicionamiento clásico (incluido el recuerdo del miedo), claramente un tipo definitivo de aprendizaje implícito, es su marcada inflexibilidad. Característica que convierte la alteración de los patrones de aprendizaje implícito, y por ende el condicionamiento aversivo, en un aspecto de máxima relevancia en el estudio de los trastornos mentales. De hecho, los trastornos basados en el miedo (así como sus tratamientos) han sido caracterizados de forma consistente con procesos de condicionamiento aversivo. Los trastornos basados en el miedo, como el trastorno obsesivo compulsivo (TOC), son altamente prevalentes afectando al 14% de la población. Por tanto, el estudio de los correlatos neurobiológicos del aprendizaje del miedo en pacientes con TOC y su relación con la respuesta al tratamiento de la terapia cognitivo-conductual (TCC) se convierte en un paso necesario para desarrollar biomarcadores válidos para una correcta predicción de respuesta al tratamiento. En esta sección se presenta una revisión de los principales mecanismos del condicionamiento clásico, con especial énfasis en el condicionamiento aversivo y su evaluación en el TOC y la TCC a través de técnicas de neuroimagen.

1.1 Condicionamiento clásico

Gottlieb (1) definió el condicionamiento clásico o Pavloviano como los “ajustes que realizan los organismos al observar la relación temporal entre los estímulos ambientales o los estímulos propioceptivos”. Es la forma en la que humanos y animales interpretan una secuencia de hechos y se anticipan a lo que está por suceder. El condicionamiento clásico es el proceso mediante el cual aprendemos a predecir cuándo y qué podemos comer, cuándo es probable que nos enfrentemos a un peligro y cuándo es probable que estemos a salvo. También está íntimamente relacionado con el aprendizaje

de nuevas reacciones emocionales (p.ej. miedo o placer) a estímulos que hemos asociado a un determinado evento.

La forma más conocida del condicionamiento Pavloviano consiste en emparejar un *estímulo neutro* con un *estímulo incondicionado* biológicamente relevante que provoca una *respuesta incondicionada*. Al presentarse de forma conjunta en repetidas ocasiones, el inicialmente *estímulo neutro* pasa a ser un *estímulo condicionado* que provoca una *respuesta condicionada* cualitativamente similar a la *respuesta incondicionada*. Por tanto, los estímulos y respuestas que no dependen de un aprendizaje previo son considerados *incondicionados*, mientras que los estímulos y respuestas cuyas propiedades solamente aparecen después de cierto entrenamiento se les denomina *condicionados*.

Puesto que los términos estímulo condicionado e incondicionado, y respuesta condicionada e incondicionada se utilizan habitualmente en discusiones sobre condicionamiento clásico, habitualmente se abrevian. Para facilitar la comprensión y armonizar la terminología de la presente tesis con la literatura existente - mayoritariamente en inglés - se utilizarán las siglas CS y CR para *estímulo condicionado* y *respuesta condicionada* respectivamente. De igual forma, se utilizará US y UR para referirnos a *estímulo incondicionado* y *respuesta incondicionada* respectivamente.

El primer experimento reportado por Pavlov, ampliamente conocido, utilizaba perros como sujetos, un metrónomo como CS, comida como US, y salivación como UR y CR (de acuerdo a Pavlov citado por McSweeney et al. (2)).

1.1.1 Tipos de condicionamiento

Dentro de los paradigmas de condicionamiento clásico, hay mayoritariamente dos métodos: condicionamiento inducido con una señal (*Cued Conditioning*) y condicionamiento de contexto (*Context Conditioning*). En el primero, el aprendizaje asociativo se forma entre un estímulo neutro, que pasará a convertirse en CS, y un estímulo incondicionado, o US. En el segundo, sin embargo, se asocia el US al contexto o entorno en el que se presenta, que se convertirá en CS.

Dentro de los paradigmas de *Cued Conditioning* encontramos el condicionamiento simple y el condicionamiento diferencial (3); siendo este último el más utilizado en humanos. En el condicionamiento simple, un único CS se empareja

repetidamente al US. Los efectos del condicionamiento intra-sujeto se miden mediante la sustracción de los niveles de activación/arousal del estímulo condicionado y un estado basal o intervalo entre ensayos (*inter-trial-interval*, ITI). Sin embargo, en el condicionamiento diferencial hay inicialmente dos estímulos neutros del mismo tipo; uno se empareja con el estímulo aversivo US (CS+) y el otro (CS-) se presenta sin emparejar. El aprendizaje diferencial se mide como la diferencia entre la CR al CS+ y al CS- (3).

Hull (4) describió el condicionamiento Pavloviano como un proceso asociativo por el que la magnitud de la asociación viene determinada por la magnitud de la respuesta condicionada. Para ello presentó un modelo matemático simple que especificaba el cambio de la fuerza asociativa entre el emparejamiento de un CS a un US. Esto sentó las bases para futuros modelos quantitativos más complejos (5–8).

A grandes rasgos, el modelo de Hull establecía que el proceso de aprendizaje Pavloviano es un proceso incremental basado en ensayos que involucran cambios en la fuerza asociativa entre estímulos. Esta curva de aprendizaje empieza con una ausencia de CR, seguida por un crecimiento de la CR hasta que se alcanza un nivel asintótico (Figura 1). Cabe destacar que las curvas de aprendizaje promediadas por grupos ocultan la relativa brusquedad de las curvas de aprendizaje individuales, donde pueden distinguirse de forma separada el punto de adquisición y la magnitud asintótica de la respuesta condicionada (9).

A menudo, cambios pequeños y aparentemente triviales en cómo se presentan emparejados los estímulos influyen profundamente en cuánto y cuándo se produce la respuesta condicionada. Al margen de la importancia de la duración e intensidad del CS y el US, Hull describió dos grupos de parámetros que consideró más relevantes: (1) el tiempo relacionado con el intervalo CS-US y (2) número y duración de los ensayos (*trials*).

Como se ha comentado anteriormente, el tiempo que transcurre desde el final de un ensayo de condicionamiento hasta el inicio del siguiente ensayo se denomina intervalo entre ensayos (ITI). Por el contrario, el tiempo desde el inicio del CS hasta el inicio del US dentro de un ensayo de condicionamiento se denomina intervalo entre estímulos (*inter-stimulus-interval*, ISI) o intervalo CS-US. Para que se desarrolle la respuesta

condicionada, es aconsejable que el intervalo entre estímulos sea mucho más corto que el intervalo entre ensayos (por ejemplo, Sunsay et al. (10)).

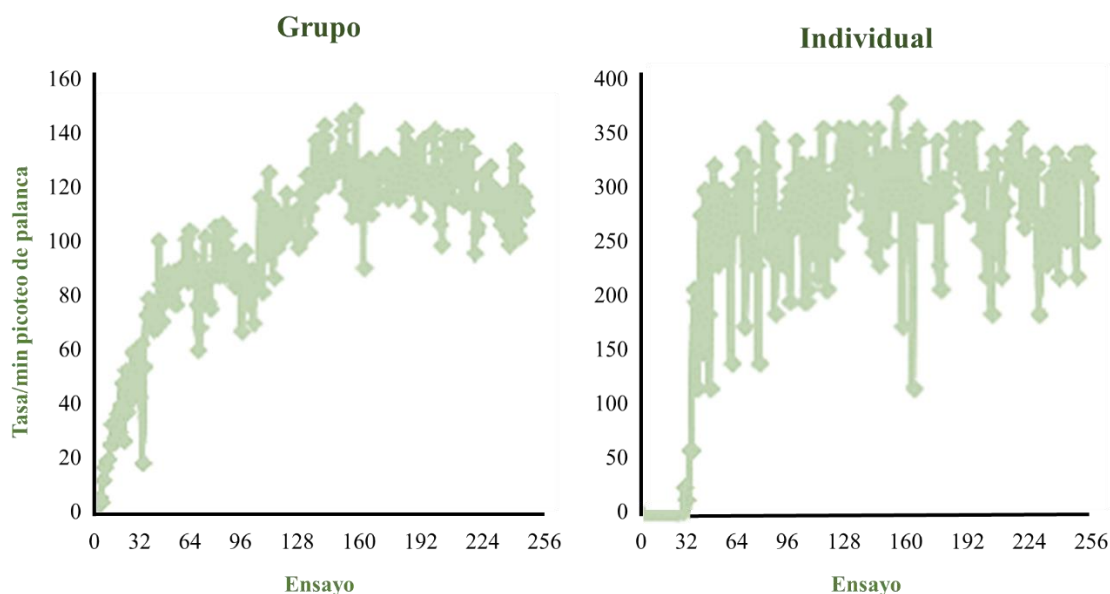


Figura 1. Izquierda: promedio grupal de la curva de aprendizaje para 16 palomas en 32 ensayos/día. Derecha: curva de aprendizaje para 1 de las 16 palomas. Adaptación de McSweeney et al. (2)).

En función del intervalo CS-US (1), se describen los siguientes tipos de condicionamiento (Figura 2):

Condicionamiento de demora (Delay Conditioning). Sin duda, el más utilizado. Se caracteriza por un retraso o demora en la aparición del US respecto al inicio del CS. La presentación del CS se produce antes de la presentación del US y continúa al menos hasta el inicio del US. El CS puede continuar durante el US o acabar cuando empieza el US. En función del paradigma y del tipo de CR que se quiera conseguir se utiliza un intervalo CS-US más o menos largo, dando lugar a *short-delay conditioning* y *long-delay conditioning*. En general, se utilizan intervalos muy cortos (~ms) para respuestas musculo-esqueléticas (11) y no tan cortos (~seg.) para respuestas emocionales (12). Otros autores (13), sin embargo, sugieren que acortar el intervalo CS-US favorece el condicionamiento en general.

Condicionamiento de traza (Trace Conditioning). Al igual que en el condicionamiento de demora, el estímulo condicionado se presenta antes que el estímulo incondicionado, sin embargo, en el condicionamiento de traza el US no se presenta hasta

cierto tiempo después de la finalización del CS. Esto deja un espacio temporal entre el CS y el US llamado **intervalo de traza** (*Trace Interval*) (14).

Condicionamiento Simultáneo (*Simultaneous Conditioning*). Probablemente el más obvio, aunque no el que genera mejores resultados. Se produce cuando el inicio y el final del estímulo condicionado y del estímulo incondicionado se presentan al mismo tiempo.

Condicionamiento hacia atrás (*Backward Conditioning*). Se invierte el orden temporal de la presentación de los estímulos CS y US. Es decir, primero se presenta el US y una vez ha finalizado se presenta el CS. Se trata del tipo de condicionamiento en el que es más complejo adquirir una CR.

Respecto al número y duración de los ensayos (2), no hay duda que la repetición de los ensayos es un proceso básico para conseguir el condicionamiento. Hull describió el *tiempo entre ensayos*, el *número de sesiones* y el *número de ensayos* como variables a tener en cuenta. Sin embargo, estudios posteriores no han llegando a un consenso claro entre el número de sesiones y de ensayos óptimos (15,16). Por otro lado, sí han ratificado la importancia del ITI, estableciendo que alargar el tiempo entre ensayos incrementa la posibilidad de obtener una respuesta condicionada, la rapidez con la que se adquiere, así como la magnitud de la misma.

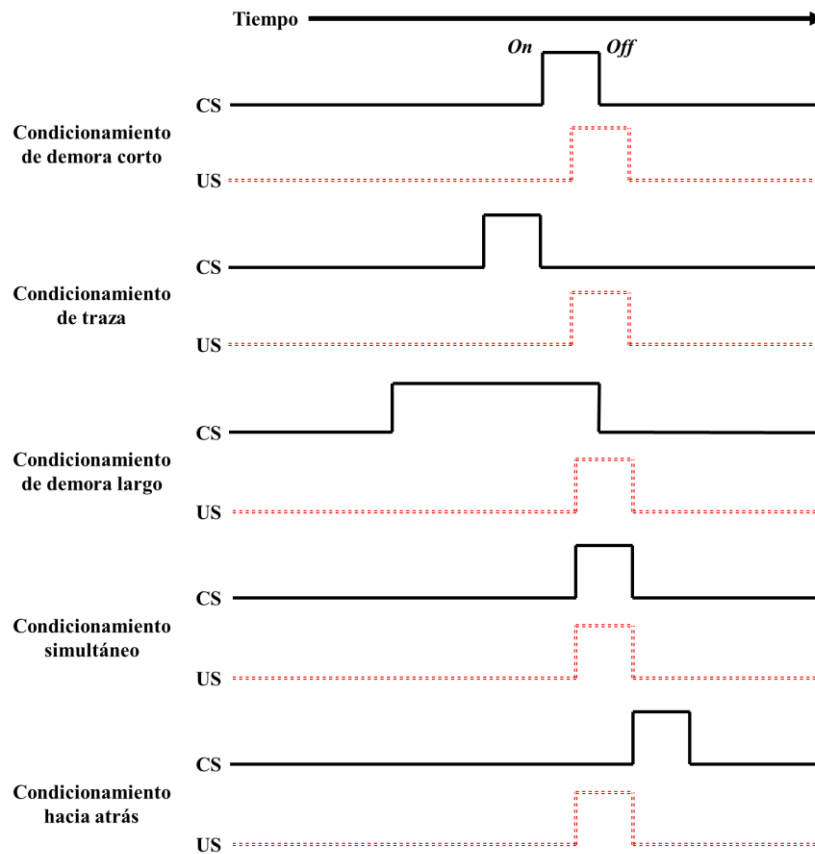


Figura 2. Ejemplo de cinco tipos de procedimiento de condicionamiento clásico. CS: Estímulo condicionado; US: Estímulo incondicionado.

1.1.2 Fases del condicionamiento

La mayor parte de los paradigmas de condicionamiento en humanos se componen de diferentes fases. En función del paradigma y del objetivo del estudio se evalúan una selección de las siguientes (17):

Habitución o pre-condicionamiento. En los estudios de condicionamiento diferencial habitualmente se presentan los estímulos CS+ y CS- de forma aleatoria y sin emparejamiento con el US. El objetivo de esta fase de habituación es reducir las posibles respuestas a estos estímulos y establecer una línea base fisiológica. En los estudios de ansiedad, en concreto, es fundamental determinar en esta fase que la respuesta es idéntica para el CS+ y el CS- (aún neutros los dos), de modo que las comparaciones posteriores no estén sesgadas.

Adquisición o Condicionamiento. Es el principal fenómeno del condicionamiento Pavloviano y hace referencia al crecimiento de la respuesta condicionada como resultado

del emparejamiento del inicialmente neutro CS con el US a lo largo del tiempo (de acuerdo a Pavlov citado por McSweeney et al. (2)). Durante este proceso se adquiere una asociación entre el CS+ y el US que, con la repetición de ensayos, da lugar a una CR al CS+ sin necesidad de la presencia del US.

Extinción. Proceso a partir del cual se genera una pérdida gradual de la respuesta condicionada al estímulo condicionado. Se produce cuando el CS+ se presenta de forma repetida sin el emparejamiento con el US y, por tanto, se rompe la relación CS+ y US (de acuerdo a Pavlov citado por McSweeney et al. (2)). La extinción puede llevarse a cabo en el mismo contexto que el condicionamiento o en uno diferente. Se considera el mecanismo central en el tratamiento cognitivo-conductual basado en la exposición de los miedos patológicos (18).

Recuerdo de la Extinción (Extinction Recall). Se refiere a la recuperación y expresión de la memoria de extinción tras un período de tiempo. Generalmente se evalúa cuando la extinción se ha realizado en un contexto distinto al condicionamiento. En los estudios en los que se evalúa esta fase, durante el condicionamiento se suelen utilizar dos CS+, de los cuales solo se extingue uno de ellos durante la fase de extinción (CS+E), mientras que el otro permanece condicionado (CS+U) (19).

Renovación del condicionamiento (Renewal). Se describe como el retorno de la respuesta condicionada a un CS+ previamente extinguido, cuando ese CS+ se muestra en un contexto que es diferente del contexto de extinción. El efecto de *renewal* es más evidente cuando se muestra de nuevo el CS+ al sujeto en el contexto en el que fue condicionado.

Restablecimiento del condicionamiento (Reinstatement). Ocurre cuando hay una re-exposición al US de forma aislada, después de haberse efectuado la extinción. Es decir, se recupera la respuesta condicionada extinguida sin la necesidad de volver a presentar el CS+. Este efecto tan solo es detectable al volver a evaluar la respuesta al estímulo condicionado posteriormente (20). El efecto es debido al contexto, de forma que cuando se presenta el US después de la extinción, el sujeto lo recuerda asociado al contexto original.

Reversión (Reversal). Se utiliza para evaluar la capacidad de recondicionamiento o adaptabilidad del aprendizaje. En esta fase, el estímulo condicionado CS+ y el estímulo

neutro CS- definidos en la fase de *condicionamiento* se invierten. El nuevo estímulo condicionado (nuevoCS+) es el que en la fase de condicionamiento había sido neutro (CS-), y viceversa.

1.1.3 Condicionamiento aversivo

1.1.3.1 Definición y relación con los trastornos de ansiedad

Los fenómenos y procesos descritos en los apartados anteriores se pueden presentar en diferentes situaciones experimentales del condicionamiento clásico. Entre ellos, el condicionamiento del miedo o condicionamiento aversivo resulta el paradigma experimental de mayor relevancia para el estudio de la etiología de los trastornos de ansiedad, así como para el diseño de intervenciones dirigidas a obtener una respuesta terapéutica.

El miedo es la activación del sistema de comportamiento funcional responsable de la defensa, y las principales CR pavlovianas del miedo son reacciones de defensa específicas de cada especie. Ese aprendizaje asociativo entre estímulos ambientales no amenazantes y estímulos dolorosos, peligrosos o amenazantes, provocan un conjunto de respuestas que han permitido defender con éxito a los miembros de la especie durante su historia filogenética (21–23). El condicionamiento del miedo activa los circuitos de supervivencia del cerebro (24), por tanto, desde un punto de vista evolutivo, el miedo es algo positivo. Sin embargo, en términos de seguridad, el peligro debe ser predecido. Eso lo convierte en un evento probabilístico con una incertidumbre implícita que puede llevar a clasificar las situaciones como amenazantes con cierta ambigüedad, de tal forma que podemos estar reaccionando a situaciones seguras como si fuesen peligrosas. La aparición de este tipo de reacciones es quizá el principal componente definitorio de miedo o ansiedad en situaciones inadecuadas, o bien de un trastorno de ansiedad. Podemos decir, entonces, que la selección natural nos ha hecho vulnerables a los trastornos de ansiedad (25).

En el condicionamiento aversivo se presentan los mismos estímulos descritos durante el condicionamiento clásico, es decir, un estímulo inicialmente neutro y un estímulo incondicionado, pero en este caso el estímulo incondicionado se caracteriza por una valencia negativa de suficiente magnitud para que el posterior estímulo condicionado

de lugar a una respuesta fisiológica característica de los fenómenos del miedo (la respuesta condicionada al miedo).

La primera demostración en un laboratorio con humanos del condicionamiento aversivo se llevó a cabo por Watson (26), donde condicionaron una respuesta de miedo (ruido metálico fuerte [US]) a la presencia de una dócil rata blanca de laboratorio (CS) en un bebé de nueve meses llamado Albert. Sorprendentemente, el miedo condicionado se generalizó a otras cosas peludas (un conejo, un abrigo de piel, algodón, un perro, y una máscara de Papá Noel).

El condicionamiento pavloviano del miedo no sólo es relevante para encontrar las causas de los trastornos de ansiedad, sino también para su tratamiento. La forma más eficaz de tratamiento de los trastornos de ansiedad es la terapia cognitivo-conductual de exposición con prevención de respuesta (27), que es principalmente una aplicación de la extinción pavloviana (28). La extinción es un nuevo aprendizaje que interfiere con el aprendizaje original, pero no lo deshace. Sin embargo, el aprendizaje original no se borra, porque a medida que pasa el tiempo, el aprendizaje original, y por lo tanto el miedo, puede llegar a recuperarse (2). Así pues, el condicionamiento pavloviano del miedo es más que un modelo: nos permite recrear tanto la causa como el tratamiento de un trastorno de ansiedad en un entorno de laboratorio controlado. Con esta nueva perspectiva, no es de extrañar que haya habido un crecimiento exponencial en el uso de la técnica a partir del año 2000 (Figura 3).

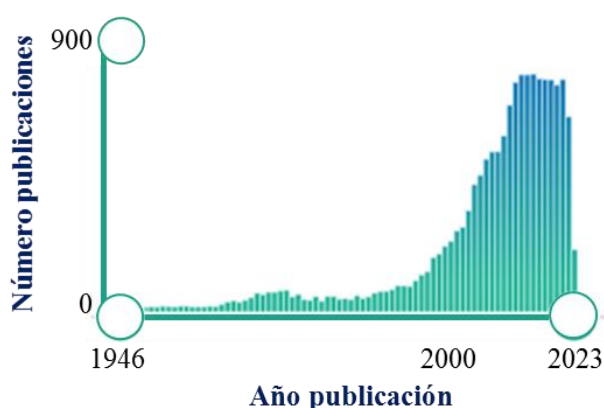


Figura 3. Número anual de artículos publicados de condicionamiento del miedo desde el 1946. Datos extraídos utilizando “Fear Conditioning” en PubMed.

1.1.3.2 Tipos de estímulos aversivos y definición del umbral

Existen multitud de estímulos aversivos que pueden diferir en el tipo (auditivo, olfativo, táctil o visual), la relevancia o notoriedad, y el nivel de desagrado, todos ellos factores que pueden influir en la neurobiología del condicionamiento del miedo (Tabla 1) (29). Se suelen seleccionar en función del paradigma utilizado y/o de la patología a estudiar.

Tabla 1. Ejemplo de estímulos aversivos utilizados en paradigmas de condicionamiento.

AUDITIVO	Sonido fuerte desagradable (30), ruido blanco (31,32), gritos humanos (33) o insultos/descalificaciones (34,35)
OLFATIVO	Huevos podridos, calcetines sudados (36)
TÁCTIL	Shock eléctrico, presión (37), temperatura (38), soplo de aire (39,40)
VISUAL	Imágenes aversivas de bancos de imágenes tipo IAPS: International Affective Picture System (41), vídeos (42)

El establecimiento del nivel de intensidad (*umbral*) del US a aplicar es un factor crítico para conseguir un nivel de condicionamiento óptimo durante la fase de adquisición, y evitar así fenómenos como el de la habituación o la sensibilización. Esto es importante porque la respuesta condicionada puede verse incrementada o disminuida con la sucesión de los ensayos. La disminución en la respuesta que ocurre con la presentación repetida del estímulo se conoce como efecto de *habituación*. En cambio, en general, si el sujeto tiene tendencia a la excitación o ya está excitado, el mismo estímulo provocará una reacción mayor con el paso del tiempo. A este efecto se le denomina *sensibilización*. Con un calibrado adecuado del umbral podremos tratar de evitar cualquiera de estas dos situaciones.

Además, se debe tener en cuenta que para los experimentos en los que se utiliza un US con intensidad variable (p.ej. shock eléctrico, presión, temperatura...), la intensidad se debe ajustar de forma individual de manera que se valore como “molesto, pero no doloroso”.

1.2 Medidas utilizadas en el condicionamiento aversivo

Las antiguas interpretaciones del condicionamiento Pavloviano sugerían que la CR era una réplica de la UR. Sin embargo, aunque cabe la posibilidad de que sean similares pueden tener etiologías opuestas o simplemente no estar relacionadas entre sí (14). De hecho, como CR se puede considerar cualquier respuesta que se pueda atribuir de forma fiable a la relación experimentada por el sujeto entre el CS y el US.

En los seres humanos es habitual medir respuestas del sistema nervioso autónomo ante los distintos CS presentados como, por ejemplo, presión sanguínea, pulso cardíaco, reflejo de sobresalto (*startle*), respuesta electrodermal o respuesta pupilar. Por otro lado, también es habitual recopilar la evaluación subjetiva de los pacientes mediante preguntas sobre los niveles de valencia y arousal/miedo o ansiedad provocados por los diferentes estímulos condicionados al final de cada una de las distintas fases de la tarea.

Todas estas medidas nos aportan información acerca del funcionamiento de la tarea. Es decir, nos permiten evaluar de forma objetiva si se ha producido el aprendizaje esperado tanto de condicionamiento como de extinción, en sus diferentes fases (adquisición, extinción, *recall*, *renewal*, etc.). Recientemente se han introducido medidas de resonancia magnética (MR) como son la resonancia magnética funcional (fMRI) o la espectroscopía por resonancia magnética (MRS) que nos permiten dar un paso más allá y no sólo evaluar la respuesta sino también identificar y evaluar las áreas cerebrales implicadas en estos procesos cognitivos.

1.2.1 Tasa de refuerzo y análisis habituales

Un aspecto importante a tener en cuenta a la hora de analizar estas señales es que se debe poder diferenciar sin lugar a dudas la CR de la UR. La CR es la respuesta que se obtiene una vez se ha producido la asociación entre el CS y el US (CS+). Sin embargo, el propio emparejamiento del CS+ con el US nos dificulta o impide totalmente su diferenciación dado el solapamiento temporal existente entre ambos. Se define *tasa de refuerzo* como el % de CS+ que van emparejados con el US. Así, si todos los CS tienen asociado un US, tendremos una tasa de refuerzo del 100%, mientras que si sólo la mitad de los CS reciben el US la tasa será del 50%, siendo habitual encontrar tasas de refuerzo

entre el 33 y el 66%. De esta forma hay suficientes ensayos de CS+ sin US asociado para poder efectuar los análisis.

El principal análisis a realizar es la comparación del CS+ vs. CS-. Esto nos va a permitir evaluar el nivel de aprendizaje de los sujetos durante las diferentes fases de la tarea. De igual forma, nos sirve para controlar que la persona no tenga una respuesta hiperreactiva al estímulo neutro (CS-), como se podría dar en poblaciones del espectro ansioso. Sin embargo, hay multitud de variantes de este análisis que dan lugar a una gran disparidad en las aproximaciones analíticas para valorar el condicionamiento aversivo. Ejemplos de estos múltiples análisis pueden ser la comparación entre el CS vs. ITI o comparaciones entre los primeros y los últimos trials de cada fase (*early* vs. *late*) (43).

A continuación, nos centraremos en explicar más a fondo las medidas utilizadas en la presente tesis.

1.2.1 Respuesta Electrodermal

También conocida como Actividad Electrodermal (EDA – *Electro Dermal Activity*), respuesta galvánica de la piel (GSR – *Galvanic Skin Response*) o conductancia de la piel (SCR – *Skin Conductance Response*). En su definición más simple, podemos describirla como los cambios en la actividad de las glándulas sudoríparas. Sin embargo, un incremento de sudoración no solo se da en términos de regulación de la temperatura corporal, sino que también refleja cambios en nuestro estado emocional (excitación o activación). El EDA es uno de los reflejos de la actividad del sistema nervioso autónomo simpático (44), por tanto, un incremento de la activación de este sistema resulta en un aumento de la sudoración y, en consecuencia, se observa un aumento del EDA (45).

Desde que en 1879 Vigoroux (46) vinculó la actividad electrodermal con la actividad psicológica en pacientes con trastornos emocionales, su uso se ha visto incrementado hasta utilizarse de forma habitual. Al tratarse de una medida del sistema nervioso autónomo (*involuntario*) podemos afirmar que nos da una información objetiva del estado emocional y de la percepción del entorno del sujeto. En particular, para los estudios de condicionamiento aversivo no solo fue la primera medida que se utilizó (47,48), sino que ha sido la más utilizada a lo largo de los años. Por este motivo se

considera el EDA la medida de referencia (*ground truth*) para valorar los efectos del condicionamiento del miedo (49).

La cantidad de glándulas sudoríparas varía según la zona corporal, pero su concentración y su velocidad de reacción es mucho mayor en las palmas de las manos y en las plantas de los pies (50). Por este motivo, en la mayoría de los estudios se utilizan las palmas de las manos o la superficie volar de los dedos (falanges medial o distal) como áreas para el registro electrodérmico, además de ser una ubicación de fácil acceso.

El EDA representa una medida de cambios en las propiedades eléctricas de la piel, por lo que se puede medir, por un lado, su potencial (SP: *Skin Potencial*) y, por otro, su resistencia o conductancia¹ (SR: *Skin Resistance*; SC: *Skin Conductance*). En la primera medida, que es endosomática, se valoran los cambios eléctricos simplemente mediante un amplificador pasivo de voltaje mientras que, en la segunda, exosomática, se aplica un pequeño voltaje eléctrico constante (0,5 Voltios) entre los dos electrodos. Puesto que el voltaje es constante, la corriente que pasa entre los electrodos es proporcional a la conductancia de la piel. Esta opción es la que ha dominado la literatura durante décadas, lo que ha propiciado la aparición de estándares metodológicos (51,52).

Existen dos tipos de componentes de conductancia dermal, la tónica (SCL: *Skin Conductance Level*) y la fásica (SCR: *Skin Conductance Response*). En general, se considera que la conductancia tónica de la piel es la actividad de conductancia que se produce en ausencia de un evento ambiental discreto o de estímulos externos. Es decir, mide el nivel basal del individuo con fluctuaciones lentas a lo largo del tiempo que reflejan cambios generales en la excitación autonómica. La respuesta fásica, sin embargo, se asocia con cambios rápidos y de corta duración producidos, generalmente, por estímulos sensoriales externos o procesos cognitivos que preceden a un acontecimiento. Estos cambios en la SCR son, por tanto, de especial interés en los estudios de condicionamiento aversivo (Figura 4).

Para considerar como válida una “respuesta” fásica ante un estímulo se suelen considerar como estándar los siguientes criterios: a) el incremento de la señal debe ser de al menos 0,02 μ S (micro-Siemens) respecto al período previo al inicio del estímulo

¹ La conductancia es la inversa de la resistencia y se utilizan, en este contexto, indistintamente.

(*baseline*), b) ocurrir entre 1-4 segundos posterior a éste (latencia), y c) durar un mínimo de 0,5 segundos. Por otro lado, el valor máximo se suele encontrar entre los 0,5-5 segundos posteriores al inicio del incremento (17,51,52).

Estos tiempos de respuesta (latencia, tiempo al pico, vuelta a línea base) condicionan el diseño del paradigma de forma que, para evitar el solapamiento entre las respuestas de distintos CS, hay que tener una duración del ITI adecuada. De igual forma, puesto que la duración del ISI no suele ser muy elevada (para facilitar el aprendizaje), tendremos solapamiento entre la CR y la UR. Esto nos obliga a diseñar los estudios con una tasa de refuerzo parcial de manera que tengamos suficientes ensayos con CS+ sin US asociado con los que poder hacer la comparación con los CS-. Otro punto a tener en cuenta en la duración del paradigma es el progresivo descenso en la SCR con la repetición sucesiva de la presentación de los mismos estímulos (i.e. habituación) (52,53).

Dada la naturaleza del EDA, la señal es susceptible de estar afectada y artefactada por múltiples causas, las cuales pueden dificultar o directamente impedir su posterior análisis. El principal artefacto fisiológico es el movimiento, tanto de los electrodos en sí, como movimientos musculares no necesariamente del lugar donde se encuentran los electrodos. En este aspecto, también influyen las alteraciones en el patrón de respiración (inspiraciones profundas o retención de la respiración). Otros aspectos que influyen en la variación de la calidad de la adquisición son la edad (a mayor edad, menor respuesta), la temperatura ambiente (y de las manos), humedad, otros equipos electrónicos conectados al sujeto (p.ej. Electrocardiograma, estimulador eléctrico, etc.), y efectos de ciertos medicamentos que actúan sobre el sistema nervioso central (p.ej. Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina). No se puede obviar, además, que independientemente de estos factores hay diferencias individuales que darán lugar a sujetos que podremos catalogar de hiper-reactivos, estándar o hipo-reactivos, en función de la amplitud y cantidad de sus respuestas. Está descrito, también, que hay alrededor de un 10% de la población sana que son considerados *no respondedores*, entendiendo como tales los sujetos que no muestran variación ante el US, aunque el porcentaje varía para diferentes patologías (54).

Mención aparte merece la adquisición del EDA durante la resonancia magnética. Por un lado, el aspecto de la seguridad ya que se está midiendo electricidad mediante electrodos conectados al sujeto en un entorno con gradientes magnéticos y pulsos de

radiofrecuencia capaces de generar corrientes inducidas en los sujetos, y provocar quemaduras por calentamiento de los electrodos. Afortunadamente, en la actualidad se dispone de equipos compatibles con la RM que minimizan los riesgos, sin embargo, se debe prestar especial atención cuando se combina con la administración de un shock eléctrico (habitual en estudios de condicionamiento del miedo). Por otro lado, y pese a la presencia de filtros físicos especiales para su atenuación y aislamiento, los voltajes generados por los gradientes y pulsos de radiofrecuencia crean un ruido en la señal del EDA que deberemos tratar a posteriori para poder utilizar la señal. Por último, cabe destacar que es necesaria la sincronización entre la presentación de la tarea, la adquisición de la fMRI y el EDA para poder combinar los análisis.

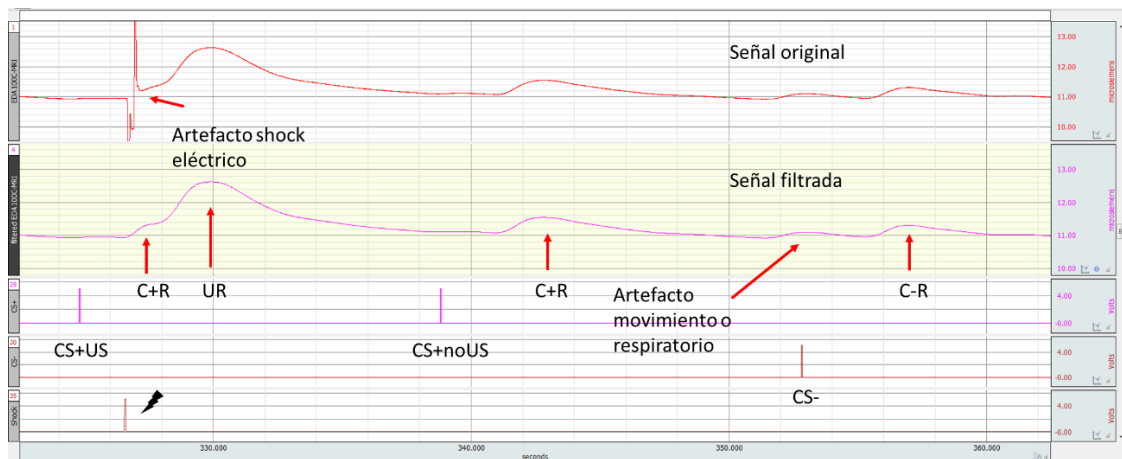


Figura 4. Ejemplo de Skin Conductance Response para los estímulos condicionados seguidos (CS+US => C+R) y no seguidos (CS+noUS => C+R) de estímulo incondicionado, para el estímulo incondicionado (=> UR) y para el estímulo neutro (CS- => C-R).

1.2.2 Resonancia Magnética

El cuerpo humano está constituido por un 63% de átomos de hidrogeno provenientes de la grasa y el agua. El punto interesante es que los núcleos de hidrogeno tienen señal de resonancia magnética nuclear y, por tanto, la resonancia magnética aprovecha la susceptibilidad magnética de los núcleos de los átomos de hidrogeno para generar una imagen del cuerpo humano. En particular, cada núcleo de hidrogeno está constituido por un protón con una carga eléctrica positiva. Estos protones muestran una propiedad llamada espín (rotación sobre ellos mismos) que origina una corriente eléctrica que puede entenderse como un pequeño campo magnético. Cuando se someten a un campo magnético externo, estos protones (entendidos como pequeños imanes) se alinean

al campo magnético externo. Si una vez alineados al campo magnético externo los protones se exponen a un pulso de radiofrecuencia, su alineación al campo magnético externo se ve perturbada a partir de un intercambio de energía electromagnética (fenómeno de resonancia). Al cesar el pulso de radiofrecuencia, el sistema de espines de los protones de los núcleos de hidrogeno recuperan su alineación al campo magnético externo (fenómeno de relajación). La energía electromagnética de radiofrecuencia absorbida por los protones es captada por las bobinas del escáner de resonancia magnética y permite reconstruir la imagen del cuerpo humano (55).

1.2.2.1 Resonancia Magnética Funcional

La resonancia magnética funcional utiliza las propiedades magnéticas de la hemoglobina de la sangre para detectar cambios locales y transitorios en la oxigenación del flujo sanguíneo cerebral (respuesta hemodinámica) en respuesta a la actividad neuronal (es decir, la evaluación de la señal dependiente del nivel de oxígeno en sangre o BOLD por sus siglas en inglés *blood oxygenation level dependent*). Durante la actividad neuronal se incrementa el consumo de oxígeno lo que provoca una respuesta compensatoria de aportación de riego sanguíneo y, en consecuencia, la hemoglobina desoxigenada (desoxihemoglobina) disminuye en relación a la hemoglobina oxigenada (oxihemoglobina). Debido a que la hemoglobina desoxigenada es paramagnética (interfiere en los campos magnéticos), cuando se reduce su concentración en sangre deja de perturbar el campo magnético al que están sometidos los protones, y permite obtener mayor nivel de señal de resonancia magnética (56). Por tanto, la fMRI permite recopilar datos sobre la función cerebral en tiempo real con una resolución temporal de 0,5 a 2 segundos durante varios minutos (es decir, permite adquirir un volumen cerebral completo en 0,5-2 segundos y esta adquisición se repite durante toda la duración de la secuencia). Aunque una explosión de métricas de fMRI en estado de reposo, como la conectividad funcional basada en semillas (57), la conectividad de redes neuronales (58), la homogeneidad regional (59), la amplitud de fluctuaciones de baja frecuencia (60) o la amplitud fraccional de fluctuaciones de baja frecuencia (61), se hayan desarrollado durante los últimos años, la detección de respuestas neuronales a diferentes estímulos y, por tanto, la resonancia magnética funcional basada en tareas sigue siendo una de las métricas por excelencia de la fMRI (62).

La idea central de la fMRI basada en tareas es investigar la actividad cerebral durante un estado de tarea diseñado para imponer demandas específicas en el cerebro. Por tanto, su objetivo principal es identificar la actividad cerebral resultante de la presentación de múltiples estímulos. Dichos estímulos pueden agruparse en condiciones de una misma tipología y presentarse de manera continuada durante un intervalo de tiempo (es decir, siguiendo un diseño de bloques) o presentarse como estímulos discretos (es decir, siguiendo un diseño relacionado con el evento). Debido a que la fMRI no ofrece una medida cuantitativa de la actividad cerebral durante la presentación de los estímulos de interés, es necesaria una comparación con la actividad neuronal resultante de la presentación de otros estímulos control. En los diseños por bloques, las condiciones de interés son restadas de las condiciones control con el objetivo de identificar la actividad cerebral relativa a la línea base de control. En los diseños relacionados con el evento, en cambio, se computa un promedio de la respuesta BOLD a todos los estímulos de interés y se compara con el promedio calculado para otros estímulos control presentados durante la tarea (63). Por ejemplo, durante el condicionamiento del miedo, el objetivo principal es detectar la actividad cerebral al CS+ en relación al CS-. Al igual que ocurre con el EDA, hay que tener en cuenta la tasa de refuerzo para poder tener suficientes CS+ sin la interferencia del US.

Ciertas particularidades metodológicas en relación a la duración de los estímulos son de especial relevancia en ambos diseños experimentales, aunque se hacen más evidentes en los diseños relacionados con el evento como en los paradigmas de condicionamiento aversivo. El primer punto clave es que siempre se debe tener en cuenta el tiempo de repetición (es decir, la duración de la adquisición de un volumen cerebral) para evitar que la presentación de los estímulos siempre coincida con la adquisición del mismo corte cerebral. El segundo aspecto, y quizá el más relevante, es que los paradigmas experimentales se deben diseñar teniendo en cuenta la duración de la respuesta hemodinámica. La respuesta hemodinámica se caracteriza por una demora implícita a la propia actividad cerebral y, por tanto, la respuesta a un estímulo concreto se detecta unos segundos después de la presentación del estímulo y su duración puede sobrepasar la propia presentación del estímulo. En este sentido, para compensar la demora de la respuesta hemodinámica en relación a la presentación de los estímulos durante un paradigma de condicionamiento del miedo, se suele emplear diferentes estrategias como

la tasa de refuerzo, diferentes duraciones de los estímulos y aleatorización en la presentación de los mismos (17).

Otro aspecto metodológico relevante es que, como en cualquier tarea experimental, se requieren de herramientas específicas para la presentación de los estímulos. Por ejemplo, para llevar a cabo un paradigma de condicionamiento aversivo, se necesita un sistema de presentación de los CS, un equipo de administración del US y un aparato de recopilación de EDA. Al tratarse de un contexto de resonancia magnética todos los sistemas deben ser magneto-compatibles y deben ser instalados de manera específica para que se respeten tanto las medidas de seguridad como los niveles de calidad de obtención de la señal.

Llegados a este punto es de especial interés revisar los principales resultados que la fMRI basada en tarea ha permitido aportar al conocimiento de los correlatos neurobiológicos del condicionamiento aversivo en humanos. Fullana et al. (64) llevaron a cabo un meta-análisis de los resultados de 677 participantes sanos de 27 estudios independientes, y principalmente destacaron un incremento de la actividad de la corteza cingulada anterior dorsal (CCAd) y la ínsula durante el condicionamiento del miedo (es decir, $CS+ > CS-$). Uno de los aspectos más relevantes de este estudio fue que también evaluaron las desactivaciones durante el condicionamiento del miedo (es decir, $CS+ < CS-$). Con la argumentación de que este tipo de análisis permitía identificar los correlatos neuronales del procesamiento de las señales de seguridad, sugirieron que la desactivación de la corteza prefrontal ventromedial (CPFvm), la corteza orbitofrontal lateral, el hipocampo y la corteza cingulada posterior podía estar explicando el procesamiento del $CS-$ como una señal de seguridad.

En otro meta-análisis realizado por Fullana et al. (19) se analizaron los resultados de 1074 participantes sanos de 31 estudios independientes durante el aprendizaje de la extinción del miedo y 342 participantes sanos de 16 estudios durante el recuerdo de la extinción del miedo. Durante el aprendizaje de la extinción del miedo (es decir, $CS+ > CS-$) se manifestó un patrón de activación similar al observado durante el condicionamiento del miedo en Fullana et al. (64), con especial énfasis en la actividad de la CCAd y la ínsula. En cambio, durante el recuerdo de la extinción del miedo y, específicamente utilizando el contraste $CS+E > CS+U$, se observó un incremento de la actividad de la CPFvm, la corteza prefrontal dorsolateral y el hipocampo. La integración

de los hallazgos revelados en los meta-análisis realizados por Fullana et al. (19,64) parece sugerir que la actividad de la CCAd, la ínsula, la CPFvm y el hipocampo es fundamental en los procesos de condicionamiento aversivo (Figura 5).

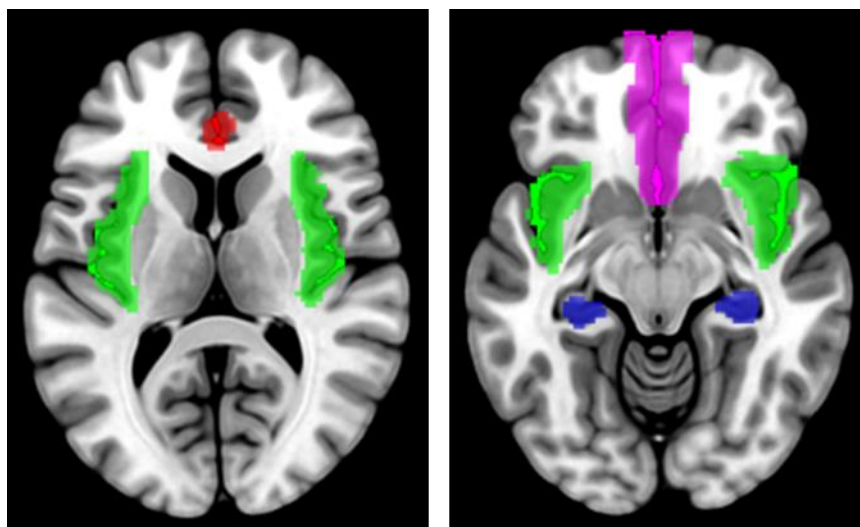


Figura 5. Visualización Axial, sobre una plantilla estructural, de los principales sustratos neurales del condicionamiento aversivo en humanos: **corteza cingulada anterior dorsal**, **ínsula**, **corteza prefrontal ventromedial**, e **hipocampo**.

1.2.2.2. Espectroscopía por Resonancia Magnética

Desde 1985 (65), la espectroscopía por resonancia magnética se ha venido utilizando en neurociencia clínica como método para investigar *in vivo* la neuroquímica cerebral, fundamental para comprender las enfermedades neurológicas y psiquiátricas. La MRS es una técnica no invasiva que utiliza los mismos principios físicos y métodos de detección que la resonancia magnética, pero añade una dimensión adicional de información al detectar también las frecuencias de resonancia de los metabolitos. Aprovecha que los protones reaccionan de forma ligeramente diferente al campo magnético, dependiendo de su entorno químico. Esto permite distinguir entre diferentes compuestos químicos y cuantificar sus concentraciones incluso en concentraciones bastante bajas. Dentro de los diferentes protones, el de hidrógeno (H^1) es el núcleo utilizado más comunmente, ya que su abundancia natural es de casi el 100%, por lo que cuando hablamos de MRS, generalmente nos estamos refiriendo a H^1 -MRS.

El metabolito se mide en un volumen determinado, el vóxel. Para ello, se mide el espín nuclear de ciertos núcleos que, al manipularlo, producirá una resonancia a una

frecuencia determinada, característica de un determinado metabolito. Los dos métodos principales para la MRS son la espectroscopia de punto resuelto, PRESS (*Point RESolved Spectroscopy*) y el modo de adquisición de eco estimulado, STEAM (*STimulated Echo Acquisition Mode*). Uno de los retos de la MRS es que los metabolitos se presentan en cantidades muy pequeñas en comparación con otras sustancias muy abundantes, por lo que debemos tratar de maximizar la relación señal-ruido. A mayor tamaño del vóxel, mejor señal obtendremos, pero disminuiríamos la especificidad espacial al incluir áreas adyacentes. También podemos aumentar la señal repitiendo el número de medidas adquiridas y promediándolas, pero con el coste de mayor tiempo de adquisición. Cabe destacar que, dada la abundante presencia y alta concentración de hidrógeno, el agua debe suprimirse de forma especial puesto que de no hacerlo enmascararía por completo al resto de metabolitos de interés, dado que su amplitud frecuencial es del orden de 5000 veces superior (66).

Un espectro de resonancia magnética puede describirse como un "gráfico con picos" (Figura 6), en el que el eje x se traza en unidades adimensionales de partes por millón (ppm) y el eje y, que representa la amplitud, se da característicamente en unidades arbitrarias. Las unidades ppm son relativas a una frecuencia de referencia, por ejemplo, agua sin suprimir a 4,75 ppm. Los picos aparecen a frecuencias constantes y son característicos de la frecuencia de resonancia específica del H1 visible por resonancia magnética en diferentes moléculas. La amplitud del pico es directamente proporcional al número de protones resonantes disponibles e, indirectamente, a la concentración de la sustancia.

La MRS del cerebro se utiliza principalmente en investigación, pero también se utiliza clínicamente en esclerosis múltiple y enfermedades inflamatorias, epilepsia, recién nacidos con signos de asfixia, entre otros. Más habitualmente, la MRS se incluye en el estudio de los tumores cerebrales, ya que puede ayudar a clasificar el tumor, decidir la extensión del tumor y como guía para la biopsia (67).

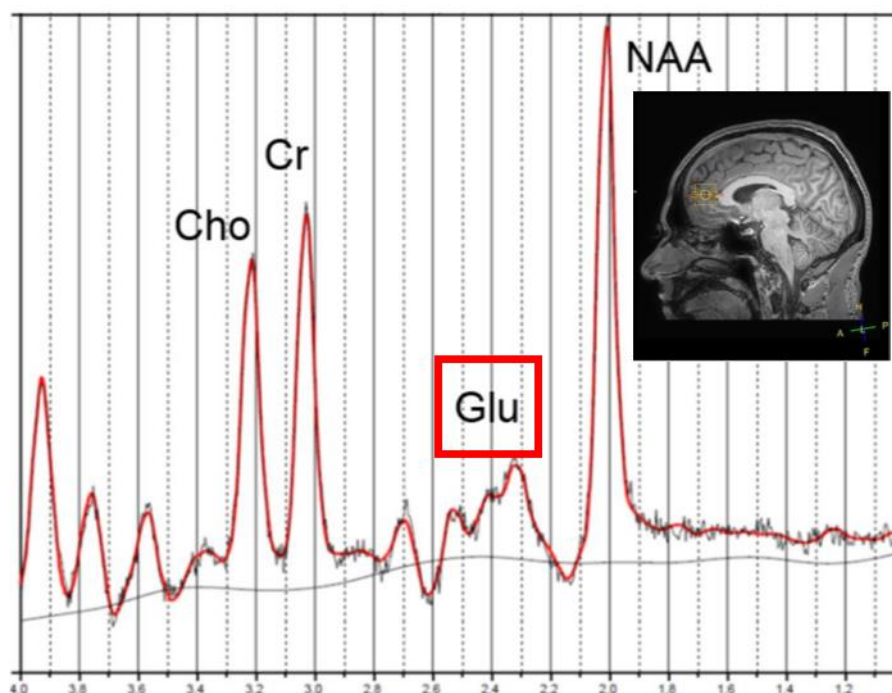


Figura 6. Ejemplo de espectro metabólico resultante de la corteza prefrontal ventromedial (cuadrado amarillo). Cada metabolito aparece en el eje de las X según su frecuencia de resonancia (partes por millón, ppm), y su concentración se representa según la altura de su pico (eje de las Y). Imagen adaptada de Giménez et al. (68). Cho: Colina; Cr: Creatina; Glu: Glutamato; NAA: N-acetyl-aspartato.

Los metabolitos principales detectados en la MRS son:

- NAA (N-acetyl-aspartato): Marcador neuronal, participa en la biosíntesis de mielina, marcador de formación y mantenimiento de la mielina. (2,02 ppm)
- Cho (Colina): Biomarcador del estado del metabolismo de los fosfolípidos de membrana. Altos niveles de colina indican la presencia de altos niveles de recambio de membrana. (3,20 ppm)
- mI (myo-Inositol): Azúcar implicado en la regulación de la osmolaridad neuronal. Tradicionalmente marcador de células gliales, la teoría más reciente sugiere que las células gliales son un almacén de mI. (3,56 ppm)
- Glu, Glx (Glutamato, Glutamato+Glutamina): El neurotransmisor excitatorio más abundante. (2,20 y 2,40 ppm)
- GABA (Ácido Gamma aniobutírico): El neurotransmisor inhibitorio más abundante. (aprox. 3,0 ppm)
- Cr (Creatina): Marcador de energía metabólica. Se le supone relativamente estable y, por tanto, habitualmente utilizado como metabolito de referencia. (3,03 ppm)

Entre estos metabolitos es de especial relevancia destacar el complejo glutamato+glutamina, referido simplemente como glutamato a lo largo de la presente tesis. Como se ha comentado con anterioridad, el glutamato es el neurotransmisor excitatorio por excelencia del sistema nervioso y, por ello, está implicado en múltiples procesos cognitivos que requieren de un equilibrio neurofisiológico estable. Específicamente, los circuitos cerebrales glutamatérgicos juegan un papel principal en el desarrollo de las conexiones sinápticas normales, las cuales son esenciales para el aprendizaje y la memoria (69). Por tanto, la modulación glutamatérgica cerebral es un proceso biológico crítico en los procesos de condicionamiento aversivo. Amplia evidencia pre-clínica (modelos animales) ha demostrado que la plasticidad neuronal, requerida en los procesos del condicionamiento aversivo, implica una despolarización neuronal a través de la activación de los receptores de glutamato N-metil-D-aspartato (NMDA) (70). Asimismo, agonistas de los receptores NMDA parecen facilitar el aprendizaje de la extinción del miedo (71,72). Más específicamente, la activación de los receptores NMDA en la corteza infralímbica (homóloga a la corteza prefrontal ventromedial en humanos) parece mediar el incremento de neurotransmisión glutamatérgica durante la consolidación del aprendizaje de la extinción del miedo (73), lo cual facilita el recuerdo de la extinción del miedo (74,75).

1.3 Trastorno Obsesivo Compulsivo y su relación con el condicionamiento aversivo

1.3.1 Descripción de la patología

El trastorno obsesivo compulsivo es un trastorno mental debilitante que afecta al 2-3% de la población general (76). Se caracteriza por la presencia de obsesiones, compulsiones o ambas. Los pensamientos, imágenes e impulsos intrusivos no deseados ocurren en al menos el 90% de la población general. Mientras que en las personas sanas estos pensamientos, imágenes o impulsos intrusivos se ignoran de manera habitual, en los pacientes con TOC se convierten en obsesiones (77). Estas obsesiones intrusivas, recurrentes y angustiosas a menudo se relacionan con temas de contaminación/limpieza, comprobación y orden/simetría, y pueden ir acompañadas de conductas o actos mentales repetitivos o ritualizados destinados a reducir la ansiedad provocada por las obsesiones (es decir, las compulsiones). Aunque el TOC está clasificado como una entidad unitaria

en clasificaciones nosológicas clásicas (78), su heterogeneidad podría ser mejor comprendida como un compendio de dimensiones de síntomas (79,80), hasta el punto que algunos estudios han sugerido la necesidad de un tratamiento diferencial basado en la dimensión de los síntomas (81). En relación a las opciones terapéuticas del TOC, los principales tratamientos incluyen intervenciones farmacológicas, como los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, y la TCC de exposición con prevención de respuesta, la cual será descrita con más detalle en las siguientes secciones.

El modelo neurobiológico dominante en relación a la etiología del TOC se basa en alteraciones en los procesos de inhibición conductual y los circuitos cortico-estriado-talámico-cortical (82,83). Los circuitos cortico-estriado-talámico-cortical implican dos vías neurales principales: la vía directa y la vía indirecta (Figura 7 y Figura 8). En la vía directa, la corteza envía proyecciones corticales excitatorias (glutamatérgicas) hacia el estriado, el cual envía proyecciones inhibitorias (gabaérgicas) al segmento interno del globo pálido que emite al tálamo. Debido a que las neuronas del globo pálido son inhibitorias, esta última proyección resulta en una desinhibición del tálamo, el cual envía proyecciones excitatorias de nuevo a la corteza. En la vía indirecta, la corteza envía proyecciones excitatorias al estriado, el cual envía proyecciones inhibitorias al segmento externo del globo pálido que emite al núcleo subtalámico. Esto conduce a que las neuronas del núcleo subtalámico se desinhiban dando salida excitatoria al segmento interno del globo pálido. Como resultado se incrementa la inhibición del tálamo y disminuye la excitabilidad de la corteza (84). En resumen, la vía directa funcionaría como un bucle de retroalimentación positiva y, por tanto, contribuye a la iniciación y continuación de la conducta, mientras que la vía indirecta proporcionaría un mecanismo de retroalimentación negativa clave para la inhibición y la flexibilidad conductual. Como en muchos otros procesos psicofisiológicos, estas dos vías deben mantenerse en homeostasis (en equilibrio) para dar lugar a una conducta que sea flexible entre la iniciación y la inhibición conductual. Por tanto, un desequilibrio en la vía directa e indirecta de los circuitos cortico-estriado-talámico-cortical podría conducir a las conductas inflexibles características del trastorno obsesivo compulsivo (82,83,85,86).

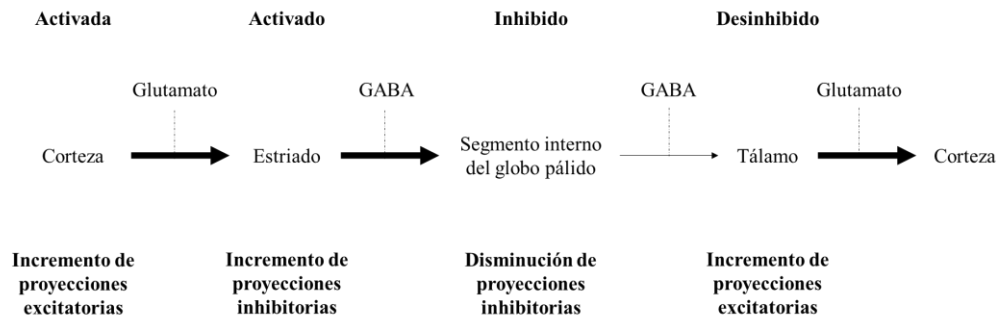


Figura 7. Vía directa de los circuitos cortico-estriado-talámico-cortical. Adaptación de Henley (87)

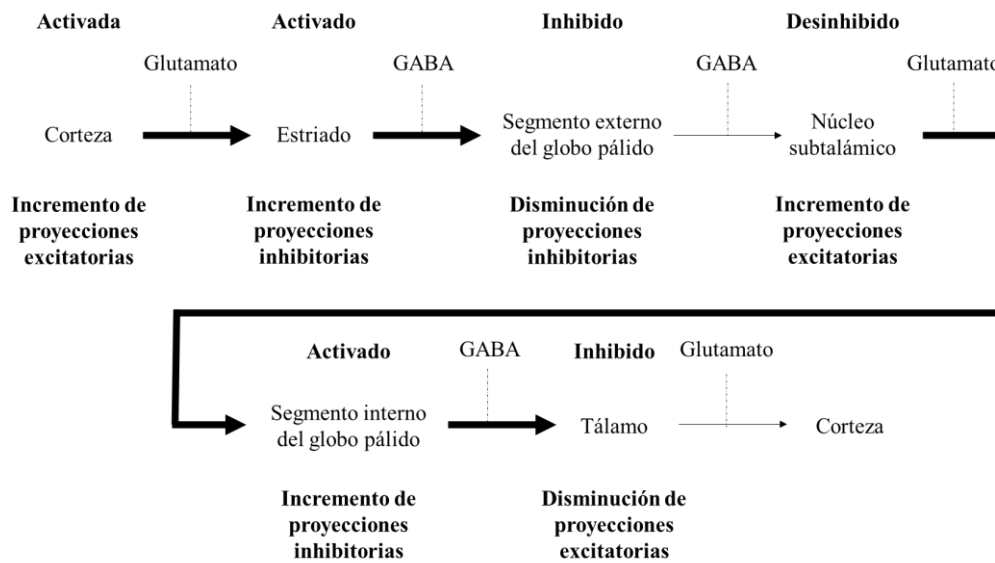


Figura 8. Vía indirecta de los circuitos cortico-estriado-talámico-cortical. Adaptación de Henley (87)

Otros modelos neurobiológicos más recientes han sugerido que la sintomatología del TOC también podría explicarse a través de alteraciones en los procesos de condicionamiento aversivo y, por tanto, han señalado la relevancia de evaluar la neurobiología del aprendizaje del miedo (88). Según este modelo, la consecuencia de no ignorar los pensamientos, imágenes e impulsos intrusivos sería el estímulo incondicionado, el cual se acaba asociando a cualquier elemento que provoque la sintomatología obsesiva compulsiva (es decir, al estímulo condicionado) y produce una respuesta defensiva de evitación o compulsiva (es decir, la respuesta condicionada). A modo de recuerdo, la neurobiología del aprendizaje del miedo en humanos implicaría principalmente las interacciones entre la CCAd, la ínsula, la CPFvm y el hipocampo (véase apartado fMRI). Aunque una de las características clave del TOC parece ser la aparente incapacidad de inhibir o extinguir el miedo asociado a las obsesiones, tan sólo dos estudios previos han evaluado los correlatos neurobiológicos del condicionamiento

aversivo en adultos con TOC obteniendo resultados contradictorios. Milad et al. (89) observaron una disminución en la actividad del caudado y el hipocampo durante el condicionamiento del miedo, así como del cerebelo, la corteza cingulada posterior y el putamen durante el recuerdo de la extinción. Además, los pacientes con TOC mostraron una reducción de la actividad de la CPFvm a través de las diferentes fases del condicionamiento aversivo (condicionamiento del miedo, aprendizaje de la extinción del miedo y el recuerdo de la extinción del miedo). En contraste, Apergis-Schoute et al. (90) encontraron un incremento de la actividad de la CPFvm durante la fase del condicionamiento del miedo (la única fase evaluada del condicionamiento aversivo).

Al hablar de los modelos neurobiológicos del TOC no nos podemos olvidar de señalar el potencial papel de las concentraciones glutamatérgicas cerebrales. Este neurotransmisor no sólo podría estar involucrado en las alteraciones de los circuitos cortico-estriado-talámico-cortical como su principal componente excitatorio sino que, dada su estrecha relación con los procesos de condicionamiento aversivo en modelos animales (91,92), podría estar reconciliando los dos modelos neurobiológicos existentes en torno a la etiología del TOC. Sin embargo, la gran mayoría de estudios previos que han comparado los niveles de glutamato en diferentes regiones prefrontales entre pacientes con TOC y controles sanos no han reportado diferencias significativas (93). Una posible interpretación de la ausencia de diferencias en la concentración de glutamato entre pacientes con TOC y controles sanos se expone en la discusión del estudio 1.

Respecto a las respuestas psicofisiológicas (medidas a través de EDA) durante el condicionamiento aversivo, los resultados previos no parecen ser más aclaradores. Apergis-Schoute et al. (90) revelaron que los pacientes con TOC pueden discriminar entre el estímulo condicionado y el estímulo neutro durante la fase del condicionamiento del miedo, pero esta habilidad se reduce en los últimos ensayos de la adquisición en comparación con los controles sanos. Fyer et al. (94) observaron una mayor respuesta absoluta a los estímulos neutros durante la fase del condicionamiento del miedo en los pacientes con TOC en comparación con los controles sanos, aunque la magnitud de respuesta total entre el estímulo condicionado y el estímulo neutro no fue significativamente diferente entre los grupos. Milad et al. (89) y McLaughlin et al. (95) hallaron que la respuesta a los CS permanecía elevada en los pacientes con TOC en comparación con los controles sanos durante la fase del recuerdo de la extinción del

miedo. Sin embargo, Nanbu et al. (96) y Pöhlchen et al. (97) no encontraron ningún hallazgo significativo en sus estudios.

De cualquier modo, uno de los aspectos más importantes de la motivación para estudiar los procesos de condicionamiento aversivo en el TOC es que la TCC de exposición con prevención de respuesta está basada en los principios del aprendizaje de la extinción del miedo (70,98–100).

1.3.2 Terapia cognitivo-conductual

La terapia cognitivo-conductual representa un conjunto diverso de intervenciones dirigidas a alterar las respuestas emocionales desadaptativas de los pacientes a través de cambiar sus pensamientos, su conducta o ambos. Dentro de todas sus estrategias psicoterapéuticas, la terapia cognitiva y la terapia de exposición con prevención de respuesta son las intervenciones más utilizadas en la práctica clínica (101). Y, desde que Victor Meyer (102) publicó el primer reporte de un caso exitoso sobre el uso de la terapia de exposición con prevención de respuesta para el trastorno obsesivo compulsivo, esta estrategia se ha convertido en la intervención psicoterapéutica de referencia para tratar el TOC. Con el objetivo de facilitar la lectura de la presente tesis, el concepto “terapia cognitivo-conductual” se ha utilizado como sinónimo de “terapia cognitivo-conductual de exposición con prevención de respuesta”.

La terapia cognitivo-conductual implica construir una jerarquía de situaciones, objetos o intrusiones mentales que puedan suscitar la provocación de sintomatología obsesiva compulsiva de los pacientes (Tabla 2). Una vez creada esta lista de elementos, el paciente debe exponerse a cada uno de ellos hasta que son fácilmente tolerables sin la necesidad de realizar las respuestas compulsivas que están asociadas al cese de la ansiedad (103). El principal objetivo es modelar las estructuras cognitivas del miedo que mantienen las asociaciones patológicas entre estímulos seguros y las respuestas de miedo. Esta base teórica sugiere que la exposición a situaciones habitualmente evitadas o neutralizadas por los pacientes permite actualizar las estructuras que organizan los recuerdos del miedo con nueva información “de seguridad” que, a su vez, disminuye la presentación de las respuestas de miedo (104). O, dicho de otra manera, la presentación del elemento (o estímulo condicionado) en ausencia de la consecuencia aversiva (o estímulo incondicionado) crea una nueva asociación (es decir, estímulo condicionado –

sin estímulo incondicionado) que compite con la asociación original estímulo condicionado – estímulo incondicionado. A lo largo de las sesiones (o entrenamiento), la nueva asociación (estímulo condicionado – sin estímulo incondicionado) se fortalece e inhibe la asociación original (estímulo condicionado – estímulo incondicionado) dando lugar a una disminución de la frecuencia de presentación de la respuesta condicionada. En este sentido, no cabe duda que los procesos de entrenamiento de extinción del miedo y recuerdo de la extinción del miedo juegan un papel indispensable en la conducción de la TCC (98,99).

Tabla 2. Ejemplo de jerarquía de exposición de un paciente con trastorno obsesivo compulsivo de contaminación por contagio por Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) y rituales de limpieza y evitación de contacto. (SUDS: Escala de Unidades Subjetivas de Angustia)

<u>Jerarquía de situaciones</u>	<u>SUDS</u>
- Acercarse a la sala del hospital donde se trata a los pacientes afectos de VIH	100
- Hacerse una analítica (Extracción de sangre)	95
- Tocar elementos del transporte público	80
- Usar cubiertos o vasos que no sean propios	80
- No lavarse/ ducharse después de haber estado varias horas fuera de casa	70
- No quitarse la ropa antes de pasar el recibidor de casa	60
- Estar en contacto con personas que han tenido heridas recientemente	60
- Pisar manchas rojas de origen desconocido	50
- Ver noticias relacionadas con accidentes en los que haya presencia de sangre	40
- Usar el PC de un compañero/a de trabajo	30
- Estar cerca de una persona que estornuda	30

La terapia cognitivo-conductual y, por tanto, el entrenamiento de extinción del miedo y el recuerdo de la extinción del miedo, es uno de los tratamientos actuales más efectivos para el TOC (103). Su eficacia, sin embargo, puede ser variable en función de las variantes en su procedimiento. Uno de los primeros factores a tener en cuenta es quién realiza el control de la exposición: exposición controlada por el terapeuta, exposición autocontrolada o exposición controlada por el terapeuta y el paciente (105). En segundo

lugar, la exposición también puede clasificarse en función de qué medio se utiliza para evocar la sintomatología obsesiva compulsiva: exposición en vivo, exposición imaginaria o exposición en vivo e imaginaria (106). En tercer lugar, se encontraría la estrategia de exposición: gradual o por inundación (exposición inicial a los estímulos que tienen una mayor probabilidad de provocar ansiedad o miedo) (107). La última variante del procedimiento se focalizaría en el grado de prevención de respuesta: prevención de respuesta completa, gradual, parcial o sin prevención de respuesta (108). A pesar de esta posible variabilidad en el procedimiento, un reciente meta-análisis y revisión sistemática ha sugerido que el protocolo de tratamiento más eficaz debe organizarse en sesiones de exposición gradual en vivo, imaginarias o ambas controladas por el terapeuta con prevención de respuesta completa de unos 90 minutos, todo ellos combinado con tareas diarias de exposición autocontrolada (109). En este sentido, los ensayos clínicos que han seguido este protocolo han revelado tasas de respuesta superiores al 80% (105,110).

1.3.3 Biomarcadores predictores de respuesta a la terapia cognitivo-conductual

A pesar del claro beneficio terapéutico de la TCC en el TOC, las sesiones de exposición con prevención de respuesta no son universalmente eficaces para todos los pacientes y hasta el momento no se ha conseguido determinar qué variables predicen la respuesta al tratamiento. Como se ha señalado en el apartado anterior, la TCC puede considerarse un análogo del entrenamiento de extinción y, por tanto, es plausible que ciertas variables neurobiológicas relacionadas con la extinción permitan predecir sus resultados. Sin embargo, los estudios previos aún no han investigado el potencial de los correlatos neurobiológicos del condicionamiento aversivo como biomarcador predictor de respuesta a la TCC en pacientes con TOC. Si bien es cierto que algunos estudios han intentado abordar la identificación de estos biomarcadores utilizando otras aproximaciones conceptuales y metodológicas, sus hallazgos parecen apuntar a una clara relación entre la neurobiología del condicionamiento aversivo y la respuesta a la TCC.

Yan et al. (111) publicaron recientemente una revisión sistemática y meta-análisis de los correlatos neurales de la TCC en pacientes con TOC, y revelaron que la respuesta al tratamiento se asociaba significativamente con mayor actividad de la corteza prefrontal medial y la amígdala antes de iniciar el tratamiento. Además, en Fullana et al.

(112) se observó que la conectividad funcional entre la amígdala y la CPFvm predecía la respuesta a la TCC. Aunque la implicación de la CPFvm y la amígdala en la respuesta a la TCC parece ser evidente, otras regiones implicadas en los procesos de condicionamiento aversivo como la ínsula también han sido identificadas como posibles biomarcadores predictores de respuesta a la TCC. Por ejemplo, Olatunji et al. (113) detectaron que la actividad de la ínsula durante un paradigma de provocación de síntomas se asociaba con la respuesta a la TCC en pacientes con TOC. Otros factores neurobiológicos como la concentración de glutamato cerebral (uno de los puntos centrales de la presente tesis) también han sido relacionados con la respuesta a la TCC (aunque sólo en muestras pediátricas/adolescentes). En este sentido, O'Neill et al. (114,115) e Ivarsson et al. (116) observaron que menor concentración de glutamato en el tálamo, la corteza cingulada posterior ventral y la corteza cingulada media se relacionaba con una mejor respuesta a la TCC.

2. Hipótesis

A continuación, se describen las hipótesis planteadas en esta tesis:

- **H1.** Los pacientes con TOC, en comparación con los controles sanos, mostrarán déficits de aprendizaje aversivo, que se observarán principalmente en la fase de recuerdo de la extinción, el cual se verá disminuido.
- **H2.** Los pacientes con TOC, en comparación con los controles sanos, mostrarán una menor concentración de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial.
- **H3.** La concentración de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial se asociará de manera inversa con la severidad basal del trastorno obsesivo compulsivo.
- **H4.** La concentración de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial se asociará de manera directa con los índices de aprendizaje aversivo, en especial con el recuerdo del aprendizaje de extinción, tanto en el conjunto de la muestra, como en el grupo de los pacientes con TOC.
- **H5.** Los pacientes con TOC diferirán de los controles sanos en el patrón de regiones que mostrarán activación (medida mediante resonancia magnética funcional) durante la fase de adquisición y aprendizaje de extinción de un condicionamiento aversivo.
- **H6.** La concentración de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial se asociará de manera directa, en los pacientes con TOC, con la reducción de síntomas que se observará tras la administración de un protocolo de terapia de cognitivo-conductual.
- **H7.** Las activaciones observadas en los pacientes con TOC durante la fase de extinción de un condicionamiento aversivo se asociarán con la respuesta a la terapia cognitivo-conductual (exposición con prevención de respuesta). En concreto, la activación de la corteza prefrontal ventromedial durante la fase de extinción del condicionamiento se asociará de una manera positiva con el éxito de la terapia cognitivo-conductual.

3. Objetivos

Los objetivos planteados en esta tesis:

- 1. Estudiar las diferencias entre pacientes con Trastorno Obsesivo Compulsivo (TOC) y controles sanos en la adquisición, aprendizaje de extinción y recuerdo de extinción de un condicionamiento aversivo (evaluado mediante la respuesta electrodermal).
- 2. Estudiar las diferencias entre pacientes con Trastorno Obsesivo Compulsivo (TOC) y controles sanos en la concentración de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial (evaluado mediante dos secuencias, con distintos tiempos de eco, de espectroscopia por resonancia magnética).
- 3. Estudiar la asociación entre la concentración glutamato en la corteza prefrontal ventromedial y la severidad del TOC al inicio del estudio (evaluado con la escala YBOCS).
- 4. Estudiar la relación entre la concentración glutamato en la corteza prefrontal ventromedial y los diferentes índices de aprendizaje aversivo (condicionamiento, extinción y recuerdo de la extinción), en el conjunto de la muestra, y por separado en los grupos de pacientes con TOC y controles sanos.
- 5. Estudiar las diferencias en activaciones cerebrales (medidas mediante resonancia magnética funcional) que se observarán entre pacientes con TOC y controles sanos durante la adquisición, aprendizaje de extinción y recuerdo de extinción de un condicionamiento aversivo.
- 6. Estudiar la relación entre la concentración glutamato en la corteza prefrontal ventromedial y el resultado de la terapia de cognitivo-conductual (disminución de síntomas obsesivo compulsivos en el período comprendido entre la evaluación pre-tratamiento y la evaluación post-tratamiento).
- 7. Estudiar la relación entre las activaciones cerebrales (medidas mediante resonancia magnética funcional) que se observarán en pacientes con TOC durante las diferentes fases de un aprendizaje aversivo (condicionamiento, extinción y recuerdo de la extinción) y el éxito de un tratamiento mediante terapia cognitivo-conductual (disminución de síntomas obsesivo compulsivos en el período comprendido entre la evaluación pre-tratamiento y la evaluación post-tratamiento).

4. Material, métodos y resultados

4.1 Artículo publicado 1

Título del artículo:

Is glutamate associated with fear extinction and cognitive behavior therapy outcome in OCD? A pilot study; Giménez M, Cano M, **Martínez-Zalacaín I**, Real E, Alonso P, Segalàs C et al.; Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2020 Dec;270(8):1003-1014. doi: 10.1007/s00406-019-01056-3. Epub 2019 Aug 20.

Disponible a través de la URL:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00406-019-01056-3>

Resumen:

Antecedentes: Las fases de extinción y recuerdo de la extinción de los paradigmas de condicionamiento aversivo puede entenderse como la base psicológica subyacente de uno de los tratamientos más eficaces del trastorno obsesivo compulsivo: la terapia cognitivo-conductual. En relación a sus correlatos neurobiológicos, las redes cerebrales glutamatérgicas y, específicamente, la estructura y función de la corteza prefrontal ventromedial se han propuesto como candidatos para entender los procesos de condicionamiento aversivo. Sin embargo, la relación de los niveles de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial con el condicionamiento aversivo y su impacto en la respuesta a la terapia cognitivo-conductual no han sido explorados en adultos con trastorno obsesivo compulsivo.

Métodos: Se evaluaron los niveles de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial usando espectroscopía por resonancia magnética y el condicionamiento aversivo usando actividad electrodermal durante un paradigma experimental de dos días en pacientes con trastorno obsesivo compulsivo (n = 17) y controles sanos (n = 13). Consecutivamente, los pacientes con trastorno obsesivo compulsivo (n = 12) recibieron terapia cognitivo-conductual.

Resultados: Los niveles de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial se asociaron negativamente con el recuerdo de la extinción del miedo y positivamente con

la respuesta a la terapia cognitivo-conductual en pacientes con trastorno obsesivo compulsivo. Sin embargo, los niveles de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial de los pacientes con trastorno obsesivo compulsivo no fueron significativamente diferentes de los niveles observados en los controles sanos, y no se asociaron con la severidad de la sintomatología del trastorno obsesivo compulsivo.

Conclusiones: La concentración de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial podría sugerirse como un biomarcador del recuerdo de la extinción del miedo y la respuesta a la terapia cognitivo-conductual en pacientes con trastorno obsesivo compulsivo.



Is glutamate associated with fear extinction and cognitive behavior therapy outcome in OCD? A pilot study

M. Giménez^{1,2} · M. Cano^{1,2,3} · I. Martínez-Zalacáin^{1,3} · E. Real^{1,2} · P. Alonso^{1,2,3} · C. Segalàs^{1,2} · J. Munuera⁴ · L. S. Kegeles^{5,6} · J. J. Weinstein^{5,6,7} · X. Xu^{5,6} · J. M. Menchón^{1,2,3} · N. Cardoner^{8,9} · C. Soriano-Mas^{1,2,10} · M. A. Fullana^{2,9,11}

Received: 11 October 2018 / Accepted: 7 August 2019 / Published online: 20 August 2019
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

Abstract

Cognitive behavioral therapy (CBT) including exposure and response prevention is a well-established treatment for obsessive–compulsive disorder (OCD) and is based on the principles of fear extinction. Fear extinction is linked to structural and functional variability in the ventromedial prefrontal cortex (vmPFC) and has been consistently associated with glutamate neurotransmission. The relationship between vmPFC glutamate and fear extinction and its effects on CBT outcome have not yet been explored in adults with OCD. We assessed glutamate levels in the vmPFC using 3T magnetic resonance spectroscopy, and fear extinction (learning and recall) using skin conductance responses during a 2-day experimental paradigm in OCD patients ($n = 17$) and in healthy controls (HC; $n = 13$). Obsessive–compulsive patients ($n = 12$) then received manualized CBT. Glutamate in the vmPFC was negatively associated with fear extinction recall and positively associated with CBT outcome (with higher glutamate levels predicting a better outcome) in OCD patients. Glutamate levels in the vmPFC in OCD patients were not significantly different from those in HC, and were not associated with OCD severity. Our results suggest that glutamate in the vmPFC is associated with fear extinction recall and CBT outcome in adult OCD patients.

Keywords Cognitive behavioral therapy (CBT) · Fear extinction · Glutamate · Obsessive–compulsive disorder (OCD) · Ventromedial prefrontal cortex (vmPFC)

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s00406-019-01056-3>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ M. A. Fullana
mafullana@clinic.cat

C. Soriano-Mas
csoriano@idibell.cat

¹ Department of Psychiatry, Bellvitge University Hospital, Bellvitge Biomedical Research Institute-IDIBELL, Feixa Llarga s/n, Hospitalet de Llobregat, 08907 Barcelona, Spain

² Carlos III Health Institute, Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental-CIBERSAM, Av. de Monforte de Lemos 5, 28029 Madrid, Spain

³ Department of Clinical Sciences, School of Medicine, University of Barcelona, Casanova 143, 08036 Barcelona, Spain

⁴ Diagnostic Imaging Department, Fundació de Recerca Hospital Sant Joan de Déu, Passeig Sant Joan de Déu, 2, Esplugues de Llobregat, 08950 Barcelona, Spain

⁵ Department of Psychiatry and Radiology, Columbia University, 622 W 168th St, New York 10032, USA

⁶ New York State Psychiatric Institute, 1051 Riverside Dr, New York 10032, USA

⁷ Department of Psychiatry, Stony Brook University, Stony Brook, 101 Nicolls Rd, Stony Brook, New York 11794, USA

⁸ Depression and Anxiety Program, Department of Mental Health, Parc Taulí Sabadell, Hospital Universitari, Parc Taulí 1, 08208 Sabadell, Spain

⁹ Department of Psychiatry and Legal Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Av. de Can Domènech, 737, 08193 Cerdanyola Del Vallès Barcelona, Barcelona, Spain

¹⁰ Department of Psychobiology and Methodology of Health Sciences, Universitat Autònoma de Barcelona, Building B1, Ca n'Altayó, s/n, Bellaterra, 08193 Barcelona, Spain

¹¹ Psychiatry Department, Hospital Clínic-Institute of Neurosciences, CIBERSAM, C/Rosselló 140, 08036 Barcelona, Spain

Introduction

For almost a century, researchers have been interested in how organisms learn to fear and “not to fear” [1, 2]. This field has gained momentum during the past two decades due to its implications for our understanding of fear-related disorders and how to treat them [3–6]. Most research in this area has used Pavlovian fear (or threat) learning experiments, where a conditioned fear response is established (*fear conditioning*) through the repeated pairing of an initially neutral stimulus (the conditioned stimulus, CS) with a negative outcome (unconditioned stimulus, US). When the CS is later presented repeatedly without the US, the conditioned fear response decreases (*extinction learning* or *within-session extinction*). The memory of extinction learning can be probed later by presenting the CS again (*extinction recall* or *between-session extinction*).

Several lines of research have established that fear extinction processes are modulated by glutamate, a major excitatory neurotransmitter in the mammalian brain that is critical for learning and memory [7–11]. For example, rodent data suggest that neural plasticity associated with fear extinction requires membrane depolarization through activation of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors [12], and NMDA agonists have been shown to facilitate fear extinction [13, 14]. More specifically, activation of NMDA receptors in the infralimbic cortex seems to mediate increased glutamate neurotransmission during consolidation of extinction learning [15], thereby facilitating successful extinction recall [16, 17]. In this regard, extinction learning and extinction recall in rodents may be altered by lesions [18–21] or direct electrical stimulation [22–24] of the infralimbic cortex. In healthy humans, structural and functional neuroimaging studies suggest that the ventromedial prefrontal cortex (vmPFC), the homologue of the rodent infralimbic cortex, is also important for both extinction learning [25] and recall [26, 27].

In clinical settings, cognitive behavior therapy (CBT) including exposure and response prevention is the first-line treatment for OCD [28–30] and is based upon the principles of fear extinction learning [12, 31]. Recent studies suggest that structural and functional changes in the vmPFC could predict CBT outcome in OCD. For example, thinner cortical thickness in the rostral anterior cingulate cortex (ACC)—a subregion of the vmPFC and decreased resting-state activity between the basolateral amygdala and the vmPFC predict a better CBT outcome in OCD adult patients [32, 33]. Moreover, glutamate-based therapies such as d-cycloserine have been shown to increase the success of CBT in humans [13, 34–38]; but see also [39, 40]. Thus, endogenous brain levels of glutamate may be associated with CBT outcome.

This possibility was recently explored in a randomized controlled trial of CBT in children/adolescents with OCD

[41]. In this study, the authors found that lower pre-CBT levels of glutamate in the ventral posterior cingulate cortex (vPCC) were associated with better CBT outcome (i.e., greater symptom reduction). These authors had previously reported that lower pre-CBT levels of glutamate + glutamine (Glx) in the thalamus were also associated with better CBT outcome in children/adolescents with OCD [42]. Similarly, two studies in adults found decreased Glx and glutamate levels following CBT in the anterior middle cingulate cortex (aMCC) [43] and a sub-region of the vmPFC, the pregenual ACC [44].

To our knowledge, the association between brain glutamate and fear extinction has not yet been investigated in humans. Given the important role that fear extinction mechanisms may have in OCD [45], in the present pilot study, we evaluated whether glutamate levels in the vmPFC assessed using proton magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS) are associated with fear extinction learning and recall, as well as with CBT outcome, in adults with OCD. Moreover, we also included a healthy control (HC) group to control for potential baseline abnormalities in glutamate levels.

Methods

Overview

OCD patients and HC participated in a 2-day experimental protocol where glutamate levels in the vmPFC were measured using ¹H-MRS, and fear extinction (learning and recall) was assessed via skin conductance responses (SCR). Following the experimental protocol, OCD patients received a 20-week course of CBT. The study was performed in accordance with the requirements of the Institutional Review Board of University Hospital of Bellvitge and the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments. All participants gave written informed consent to participate.

Participants

We recruited patients from the OCD unit of Bellvitge University Hospital (Barcelona, Spain), and HCs (group matched by age and sex) from the local community through advertisements and word of mouth. Eligible patients were adults with a principal diagnosis of OCD (≥ 1 year) as established independently by two psychiatrists using the Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders (SCID-IV), clinician version [46].

OCD patients were eligible for CBT if they had a history of non-response (Yale-Brown Obsessive–Compulsive Scale [Y-BOCS] reduction < 35%) [47] or partial response (Y-BOCS reduction < 25%) to at least one 12 week trial with

a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) following recommended guidelines [48], and had not previously received CBT. Pharmacological treatment remained at steady doses for at least 12 weeks before the study and was kept stable throughout the study. The ^1H -MRS and fear extinction data were collected 1–2 weeks before starting CBT.

The following exclusion criteria were applied to all participants: age < 18 or > 65; active substance use, abuse or dependence (except nicotine) during the previous 12 weeks; presence of personality disorders (as assessed by the Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis II Disorders (SCID-II) [49], psychotic or bipolar disorders; mental retardation; presence or history of serious medical or neurological disorder (except a tic disorder); history of loss of consciousness for > 30 min; any contraindication for magnetic resonance imaging (MRI) scanning. Comorbid depressive and anxiety disorders were not considered to be exclusion criteria provided that OCD was the principal and most severe diagnosis.

The absence of mental disorders in the HC group was confirmed using the Spanish version of the Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI) [50], which was administered by a trained psychiatrist.

Fear conditioning and extinction procedure

We used the 2-day fear conditioning and extinction protocol developed by Milad et al. and adapted for use in the scanner [51]. Fear conditioning and extinction learning were assessed on day 1 and fear extinction recall on day 2 (24 h later). Briefly, the visual stimuli were photographs of rooms (two contexts) containing lamps of three different colors (CS). The US was a 100 ms (ms) electric shock delivered via electrodes attached to the dominant hand. During the *fear conditioning* phase, two CS (e.g., red and blue lights) were paired with the US 200 ms before the CS offset (CS+) 60% of times, and another CS (e.g., yellow light) was not (CS−). During the *extinction learning* phase, two of the three stimuli were presented, one CS+ not followed by the US (extinguished CS+ = CS + E) and the CS−. The other CS+ was not presented during extinction learning (unextinguished CS+ = CS + U). During the *extinction recall* phase, the CS + E, the CS + U, and the CS− were presented in the extinction context and no shocks were delivered. All phases of the experiment included 16 CS+ (conditioning and recall, 8 CS + E and 8 CS + U; extinction learning, 16 CS + E) and 16 CS− trials. The CS + U and CS + E were counterbalanced across participants. The CS− trials were intermixed throughout all phases of the experiment among the CS+ trials. For each trial, the room (context) was presented for 9 s (3 s alone and 6 s in combination with the CS+ or CS−). The trials of the fear conditioning phase were presented in the conditioning context. The trials of the extinction learning

and extinction recall phases were presented in the extinction context. The selection of the CS colors was counterbalanced across participants. The mean inter-trial interval was 15 s.

Skin conductance was recorded during the fear conditioning and extinction protocol as in previous studies [27, 51]. Skin conductance responses for each CS trial were calculated by subtracting the mean skin conductance level during the 2 s immediately before CS onset (during which the participants were presented with the context alone) from the highest skin conductance level recorded during the 6-sec CS duration, i.e., all reported SCR reflected changes in skin conductance above and beyond any changes produced by the context. Skin conductance data were normalized by square-root transformation, and when a SCR was negative, the absolute value was square-root transformed and the result was multiplied by − 1.

Neuroimaging data acquisition, preprocessing, and analyses

Neuroimaging data were acquired at 3T on a Siemens Magnetom Verio Syngo® MR B17 scanner equipped with 32-channel receive-only phased-array head coil (Siemens, Erlangen, Germany). For anatomical localization, a high-resolution structural MRI T1 sequence was obtained on day 1 (repetition time [TR] = 2100 ms, echo time [TE] = 2.67 ms, flip angle [FA] = 90°, field of view [FoV] = 256 × 256 pixel matrix, slice thickness = 1 mm), and the ^1H -MRS sequence was acquired on day 2. A single ^1H -MRS voxel (20 × 20 × 20 mm³) was manually placed by an experienced MRI researcher (MC) in the vmPFC, centered mediolaterally on the midline and dorsoventrally at the most anterior point of the genu of the corpus callosum. To minimize the inclusion of cerebrospinal fluid, the posterior boundary of the voxel was located just rostral to the genu (see Fig. 1).

We acquired two separate ^1H -MRS sequences with two different TEs (short and long), using this same voxel and a standard point-resolved spectroscopy (PRESS) sequence with automatic shimming. For the first sequence, acquisition parameters were: TR = 2000 ms, TE = 30 ms, and 80 averages. For the second sequence, acquisition parameters were: TR = 2000 ms, TE = 135 ms, and 128 averages (FA = 90° in both acquisitions). Short- and long-echo times were compared to evaluate optimal parameters to detect glutamate levels, as previous authors have noted the challenges in accurate determination of glutamate concentrations in vivo [52–56].

Glutamate metabolite concentrations were measured using LCModel [57, 58] version 6.3-1H. The LCModel software uses a constrained non-linear least-squares analysis to estimate the metabolite concentrations, starting with solution spectra basis sets to provide concentration estimates without operator bias. LCModel also provides error estimates for the fit of each metabolite (% standard deviation

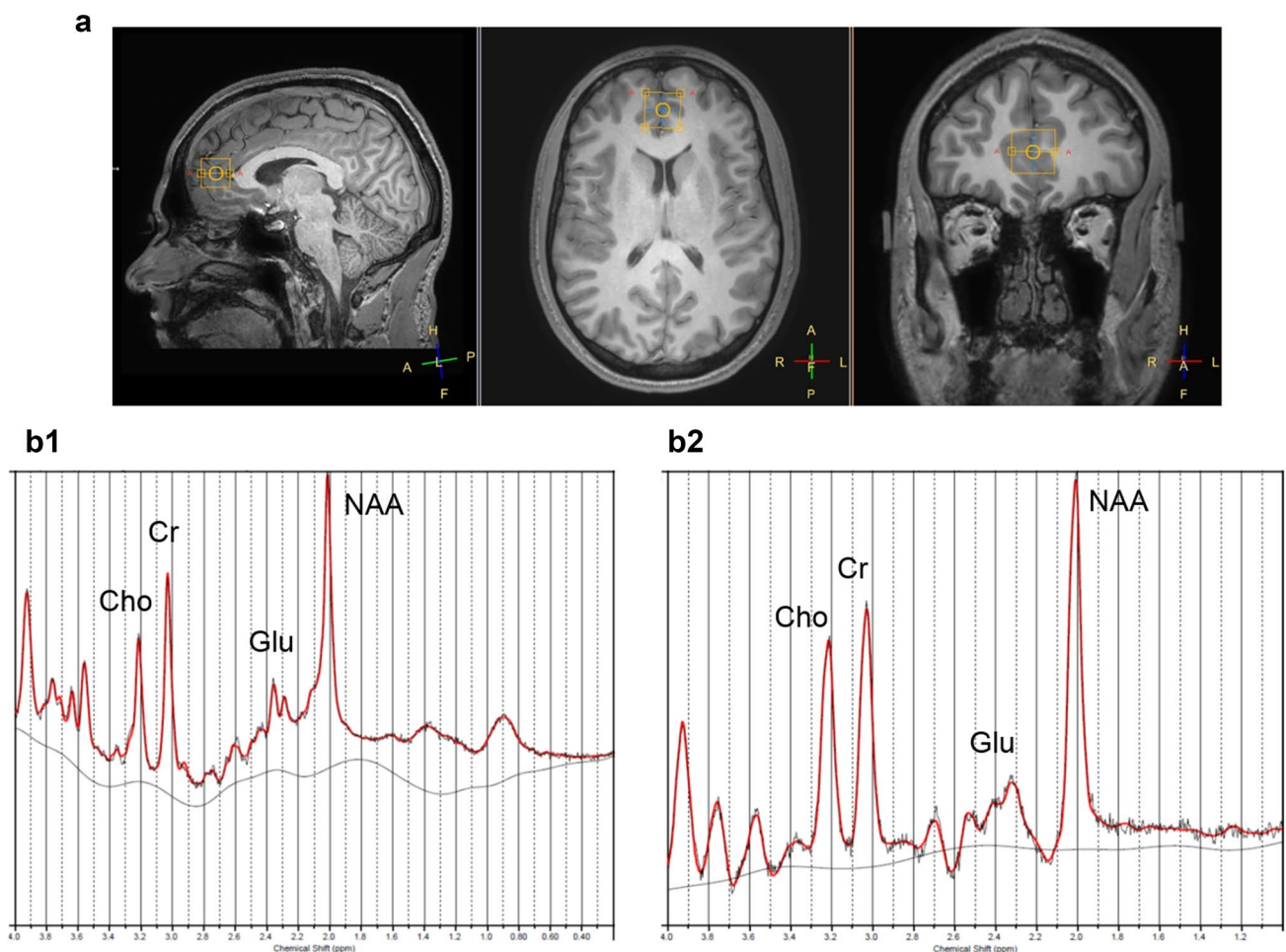


Fig. 1 **a** Single ^1H MSR-voxel localization [$20 \times 20 \times 20 \text{ mm}^3$] in the vmPFC, and **b.1** typical spectral fit (red) of signal (black) from a TE30 ms acquisition and **b.2** typical spectral fit (red) of signal (black)

from a TE135 ms acquisition. Institutional unit measure for metabolites. *Cho* choline, *Cr* creatine, *Glu* glutamate, *NAA* N-acetylaspartate, *ppm* parts per million

[SD] or Cramer–Rao lower bound [CRLB] variance). To decrease data variance, metabolite signals in the acquired spectrum were scaled to the signal of creatine (Cr) which appears to be stable within each tissue type; so, the relative values of glutamate vs. Cr were obtained (glutamate/Cr).

All spectra were visually inspected by three experts, who were blind to the study hypotheses. Cases were rejected if the fitted spectra showed: (1) poor fit for glutamate at its C4 proton multiplet resonance around 2.35 ppm (despite acceptable CRLB); (2) poor shim (full width at half maximum (FWHM) > 0.12 ppm for TE 135 ms and FWHM > 0.10 ppm for TE 30 ms); (3) low (< 8) signal-to-noise ratio [SNR]; or (4) poor distinction between major choline (Cho)/creatine (Cr) resonances at 3.2 ppm and 3.0 ppm, respectively. Thus, 2 OCD and 6 HC participants were excluded from analyses as both their TE 30 ms and TE 135 ms ^1H -MRS spectra failed to meet these criteria, giving a final sample of 30 participants (17 OCD and 13 HC). Moreover, based on these criteria, from this final sample of 30 subjects, 1 HC was

excluded from the analyses of TE 135 ms spectra data, and 1 and 3 OCD patients were excluded from the analyses of the TE 30 ms and TE 135 ms spectra, respectively.

Cognitive behavior therapy and assessment of outcome

Cognitive behavior therapy focused on exposure and ritual prevention and was provided in group setting (6–8 attendees), except for 2 patients, who received individual CBT, by an experienced therapist who was blind to the study's hypotheses. Previous research suggests that group and individual CBT have a similar efficacy on OCD [59].

All patients received 20 weekly sessions lasting ~90–120 min each (45 min for the individual sessions) following Kozak and Foa [60] manual. The first two sessions focused on psychoeducation and introducing the behavioral model of OCD, and on developing an exposure hierarchy; sessions 3–18 consisted of gradual exposure (both imaginal

and in vivo) to items of the hierarchy, with instructions for strict response prevention from compulsions. The goal was for patients to stop their rituals as early as possible during therapy. Between sessions, participants were assigned 60 min homework per day, consisting of exposure to stimuli similar to those addressed in the sessions. The last two sessions focused on relapse prevention. Formal cognitive therapy techniques were not used, but dysfunctional cognitions were discussed within the context of exposure. Clinicians who were not involved in therapy assessed OCD symptoms and comorbid depressive symptoms before and after CBT using the Y-BOCS and the Hamilton Rating Scale for Depression (HAM-D) [61].

We operationalized CBT outcome as the difference between Y-BOCS pre-CBT and Y-BOCS post-CBT. Of the 17 patients who initiated CBT, 5 did not finish the treatment, and therefore outcome data were available for 12 OCD patients.

Statistical analyses

In preliminary analyses, and for the whole sample, we compared the SCR during fear conditioning and extinction protocol using repeated-measures ANOVA for each phase (conditioning, extinction learning, and extinction recall), with CS type (CS+ vs. CS− for conditioning and extinction learning and CS+E vs. CS+U for extinction recall) as within-subjects factors and group (OCD vs. HC) as between-group factor. Following Holt et al. [62], we divided conditioning into two blocks (early and late). The trials included in each phase are the same as those reported by Holt et al. [62].

Also, following Holt et al. [62], and for each individual, we calculated two fear extinction measures. The *extinction learning index* was calculated as the mean SCR for the last four CS+E trials minus that for the last four CS− trials during the extinction learning phase. Therefore, lower scores indicated enhanced extinction learning (i.e., less discrimination between CS+E and CS−). The *extinction recall index* was calculated as $100 - [(average\ SCR\ for\ the\ first\ four\ trials\ of\ extinction\ recall / largest\ SCR\ during\ fear\ conditioning) \times 100]$. Therefore, higher scores indicated enhanced extinction recall.

We analyzed the differences between groups (OCD vs. HC) in baseline characteristics, glutamate relative levels, and the two fear extinction indices (extinction learning and recall) using the Mann–Whitney *U* test or the Chi Square (χ^2) test, and the effect of CBT on OCD symptoms using the Wilcoxon signed-rank test for related samples. For this analysis, we also calculated Cliff's δ statistic [63] as an estimate of effect size. Note that a Cliff δ effect size of > 0.47 is considered “large” [64]. We used Spearman's Rho (r_s) correlations to test the significance of the associations between glutamate relative levels and (i) OCD severity, (ii) fear

extinction measures, and (iii) CBT outcome, as well as to calculate the correlation between both measurements of glutamate (TE 30 ms and TE 135 ms).

We initially set α at 0.05. In correlation analyses, a Bonferroni correction was applied to take into account the different correlations between glutamate and the behavioral and clinical measurements (i.e., glutamate $\times$ CBT outcome, glutamate $\times$ fear extinction learning, and glutamate $\times$ extinction recall; $p\ 0.05/3 = 0.02$). Finally, an evaluation of the effects of potential outlier values was also performed on our results.

Results

Preliminary analyses: fear conditioning and extinction procedure

Figure 2 displays the mean SCR on day 1 of the experiment. During conditioning, there were significant differences between the CS+ (CS+E and CS+U) and CS− in the mean SCR within each group (both at early and late conditioning $p < 0.0005$), but the interaction group $\times$ CS type was not significant (early conditioning: $p = 0.142$; late conditioning: $p = 0.111$), thus indicating that both groups showed successful fear conditioning, but conditioning was not different between groups. During extinction learning, there were no significant differences between the CS+E and CS− in the mean SCR within each group ($p = 0.387$), and the interaction group $\times$ CS type was not significant either ($p = 0.635$), thus indicating that both groups showed successful extinction learning, and that extinction learning was not different between groups. During extinction recall, there were no significant differences between the CS+E and CS+U in the mean SCR within each group ($p = 0.740$), and the interaction group $\times$ CS type was not significant either ($p = 0.370$), thus indicating (similar to Milad et al. 2013) [45] that there were no significant differences between the two groups in the magnitude of the SCR during the recall phase.

Baseline characteristics and CBT outcome

The sociodemographic and clinical characteristics of the study participants are shown in Table 1. Glutamate levels in the vmPFC did not differ significantly between OCD and HC, for either TE 30 ms (OCD: mean, $1.136 \pm SD, 0.223$; HC 1.200 ± 0.178 ; $U\ (n_1 = 16, n_2 = 13) 91.0, p = 0.589$) or TE 135 ms (OCD: mean, 1.715 ± 0.433 ; HC 1.696 ± 0.267 ; $U\ (n_1 = 14, n_2 = 12) 88.0, p = 0.860$). Both TE 30 ms and TE 135 ms measures were highly correlated ($r_s = 0.715, p < 0.0005$). Moreover, glutamate levels were not significantly correlated with OCD severity (Y-BOCS pre CBT) (TE 30 ms: $r_s = 0.325, p = 0.219$; TE 135 ms, $r_s = -0.145, p = 0.621$).

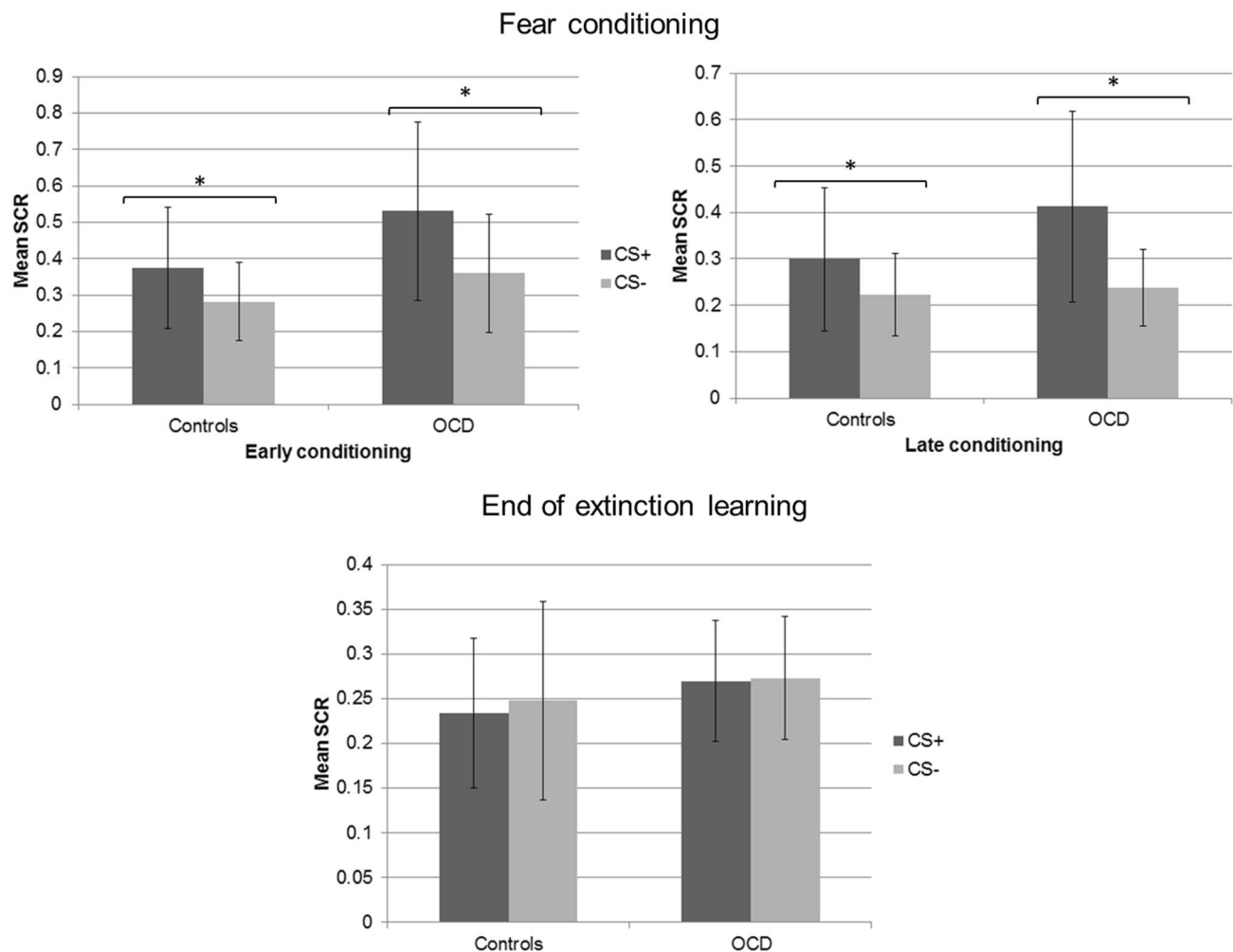


Fig. 2 Fear conditioning and extinction learning procedure: skin conductance responses (SCR) on day 1 of the experiment. Bars represent standard deviation (SD). *Significant within-group differences between CS– and CS+ during conditioning ($p < 0.0005$)

Cognitive behavior therapy was effective at reducing OCD symptoms (Y-BOCS pre CBT: 27.0 ± 5.1 ; Y-BOCS post CBT: 17.2 ± 7.0 ; Z ($n_1 = 12$, $n_2 = 12$) = -3.063 , $p = 0.002$; effect size $\delta = 0.708$).

Glutamate levels and fear extinction indices

There were no differences between OCD and HC in our indices of extinction learning (OCD: -0.004 ± 0.061 ; HC: -0.0135 ± 0.044 ; U ($n_1 = 17$, $n_2 = 13$) 106.0 , $p = 0.869$) or extinction recall (OCD: 45.97 ± 18.76 ; HC 29.89 ± 45.51 ; U ($n_1 = 16$, $n_2 = 13$) 111.0 , $p = 0.779$).

We did not observe any significant correlation between our extinction learning index and glutamate levels at TE 30 ms ($p > 0.3$) either considering the whole sample (OCD + HC) or the two groups separately. In contrast, for the whole sample, we observed a positive significant correlation between our extinction learning index and TE

135 ms glutamate levels ($r_s = 0.409$, $p = 0.038$), indicating that higher glutamate levels were associated with diminished extinction learning (see Supplementary Fig. 1). However, this correlation was no longer significant after Bonferroni correction. Within OCD patients, there was a trend toward a correlation for TE 135 ms ($r_s = 0.490$, $p = 0.075$). We also observed a significant negative correlation between our extinction recall index and TE 135 ms glutamate levels for the whole sample ($r_s = -0.483$, $p = 0.014$), i.e., higher glutamate levels were associated with diminished extinction recall, which remained significant after Bonferroni correction (see Supplementary Fig. 1). The difference in the correlation between groups approached significance ($p = 0.057$). In this sense, correlations of our extinction recall index with glutamate levels were not significant in the HC group for any TE ($p \geq 0.3$), while patients with OCD showed a significant negative correlation between our extinction recall index and TE

Table 1 Sociodemographic, clinical, and $^1\text{H-MRS}$ characteristics of study participants

Characteristic	OCD group $N=17$	HC group $N=13$	U or χ^2 tests	p value
Demographic data				
Sex (females/males)	10/7	8/5	0.023	1.000
Age (years) (mean $\pm$ SD)	40.2 $\pm$ 12.7	36.9 $\pm$ 12.8	128.5	0.457
Clinical data (mean $\pm$ SD)				
Age at OCD onset (years)	19.5 $\pm$ 10.4	–		
Y-BOCS score pre CBT	27.5 $\pm$ 4.4	–		
Y-BOCS score post CBT	17.2 $\pm$ 7.0	–		
Comorbidity (n , %)				
Affective disorders	5 (29.4)	–		
Anxiety disorders	2 (11.8)	–		
Pharmacological treatment ^a (n , %)				
Fluoxetine (20–80 mg/d)	4 (26.7)	–		
Fluvoxamine (100 mg/d)	1 (6.7)	–		
Sertraline (200 mg/d)	2 (13.3)	–		
Escitalopram (10–40 mg/d)	6 (40.0)	–		
Venlafaxine (75 mg/d)	1 (6.7)	–		
Paroxetine (40–60 mg/d)	2 (13.3)	–		
Glutamate values (mean $\pm$ SD)				
Relative value ^b TE30	1.136 $\pm$ 0.223	1.200 $\pm$ 0.178	91.0	0.589
Relative value ^b TE135	1.715 $\pm$ 0.433	1.696 $\pm$ 0.267	88.0	0.860
%SD ^c TE30 ms	6.412 $\pm$ 2.694	5.308 $\pm$ 1.601	78.0	0.161
%SD ^c TE135 ms	8.824 $\pm$ 3.302	7.615 $\pm$ 1.938	92.0	0.432

CBT cognitive behavioral therapy, HC healthy controls, $^1\text{H-MRS}$ proton magnetic resonance imaging, *ms* milliseconds, OCD obsessive–compulsive disorder, SD standard deviation, TE echo time, Y-BOCS Yale–Brown Obsessive–Compulsive Scale

^aAt least 12 weeks of this dose was required before scanning and initiating CBT. Medication was kept stable throughout the study (except in two patients who were free of medication at the time of the $^1\text{H-MRS}$)

^bMetabolite signals in the acquired spectrum were scaled to the signal of creatine (Cr)

^cStandard error estimates (Cramer–Rao lower bounds of the fit, expressed as %SD by the LCModel software)

135 ms glutamate levels ($r_s = -0.747$, $p = 0.003$, significant after Bonferroni correction). This result is depicted in Fig. 3a.

Glutamate levels and CBT outcome

There was a significant positive correlation between glutamate levels before starting CBT (baseline) and CBT outcome (Y-BOCS pre-CBT–Y-BOCS post-CBT) with both TE 30 ms ($r_s = 0.685$, $p = 0.020$) and TE 135 ms ($r_s = 0.748$, $p = 0.013$) measurements, indicating that higher levels of glutamate in the vmPFC were associated with a better CBT outcome (reduced OCD severity) (Fig. 3). Both correlations remained significant after Bonferroni correction.

No outlier subjects were detected (values > 1.5 of the interquartile range) in the variables evaluated. This was confirmed by the visual inspection of the plots (Fig. 3).

Discussion

The results of this pilot study suggest that glutamate in the vmPFC is associated with both fear extinction recall and CBT outcome in OCD. Specifically, we observed that glutamate was *negatively* associated with fear extinction recall and *positively* associated with CBT outcome.

To our knowledge, this is the first demonstration of an association between glutamate in the vmPFC and fear extinction recall (as assessed with the extinction retention index) in OCD patients. As noted in the introduction, previous research in rodents has established that both glutamatergic neurotransmission and the infralimbic cortex (the homologue of the human vmPFC) are important for extinction recall. Our results expand these animal data to OCD patients. We found that higher glutamate levels in the vmPFC in OCD patients were associated with diminished extinction recall, even though there was no

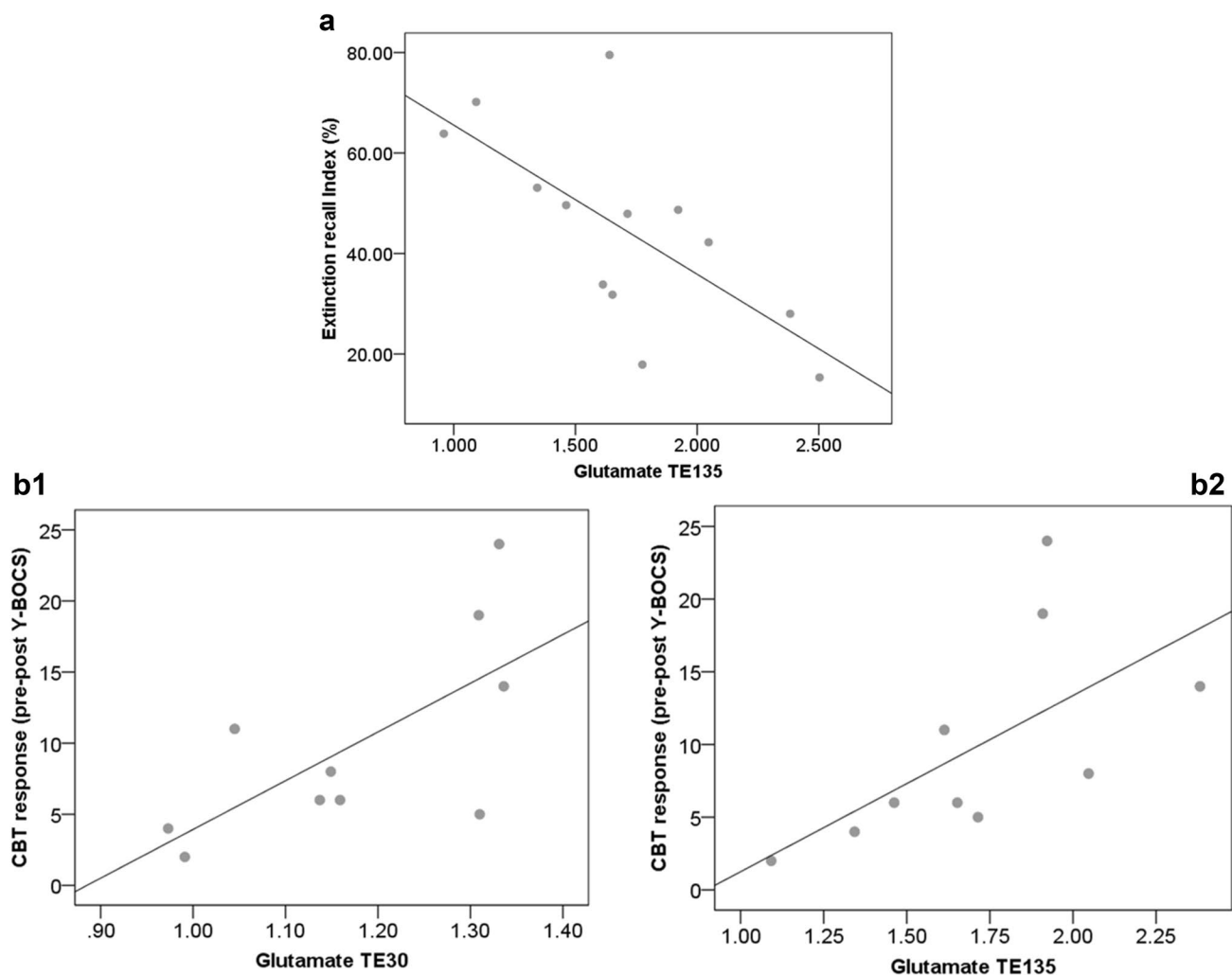


Fig. 3 Correlations between glutamate measures, extinction recall index, and CBT

difference in either glutamate levels or extinction recall between patients and controls. While previous studies in adults have not observed differences in Glx levels between OCD and HC in the orbitofrontal [65] and mPFC [66], Glx has been found to be reduced in pediatric OCD samples [67]. Thus, prefrontal glutamate changes in OCD may interact with brain development or disorder history, shifting from reduced levels during childhood to “normal” levels in adulthood, which could be, however, associated with impaired extinction recall. Of note, a previous study in healthy adults found that greater vmPFC activity—as measured with functional magnetic resonance imaging (fMRI)—correlated with better extinction recall [51], which seems in contrast to the current findings. Future studies may combine both magnetic resonance techniques—spectroscopy and fMRI—in the same participants to elucidate this apparent contradiction.

In contrast, we were not able to find a clear association between fear extinction learning and glutamate in OCD (we only found a main effect for the whole sample, in line with the extinction recall–glutamate relationship, the more the glutamate levels, the less the extinction learning). We focused on glutamate in the vmPFC because previous task-based functional studies in humans have showed that the vmPFC is activated during fear extinction processes [25]; however, this study highlighted that vmPFC activation was primarily linked to extinction recall processes [25]. Some lesion studies also support the idea that the vmPFC is more critical for extinction recall, than for extinction learning [18, 21]. Therefore, it is possible that extinction learning could be mostly driven by glutamate levels in other brain regions.

Glutamate levels in the vmPFC were, however, positively associated with CBT outcomes in our OCD sample. Although our results have to be interpreted with caution

given the pilot nature of our study, they seem to confirm (and expand to an adult population) the role of glutamate as a potential CBT treatment biomarker in OCD, as recently suggested by O'Neill et al. [41]. In their pediatric sample, O'Neill et al. found a *negative* association between glutamate levels in the vPCC and CBT outcome, in contrast to the *positive* association we observed in the vmPFC in this study. There are at least two possible explanations for these differences. First, as mentioned above, brain development or disorder history may modulate the effect of glutamate on OCD. Second, here we focused on the vmPFC because of its putative role in fear extinction, and we did not assess the vPCC.

Our findings of increased glutamate associated with *reduced* extinction recall and better CBT outcome may seem contradictory, given that *increased* extinction recall has been found in at least one study to be associated with better CBT outcome in social anxiety disorder [68]. However, it is possible that individuals with increased vmPFC glutamate levels may show reduced extinction recall, and, at the same time, these individuals may also benefit more from CBT, which is aimed at improving such “deficient” extinction recall (see [33]). Moreover, although both extinction learning and recall could be proxies for processes occurring during CBT, it is unclear which is more strongly associated with CBT. Despite previous evidence indicating that CBT is associated with fear extinction recall [68], recent reports also establish a link between CBT and extinction learning [69, 70]. In any case, extinction learning and recall seem to be independent processes, which may be differently associated with CBT outcome [25, 51, 71]. In this context, it is important to note that Milad et al. [45] found diminished extinction recall in patients with OCD, but not impaired extinction learning. Nevertheless, in our study, we did not observe such dissociation between extinction learning and recall, and this may be partially explained by methodological reasons, such as sample size (21 vs. 13 patients with OCD in our study) or the differences in symptom severity between samples (mean Y-BOCS scores of 22.6 vs. 27.5 in our study).

Finally, it should be also mentioned that, contrary to previous reports [72], we did not find an association between glutamate levels and the severity of OCD symptoms. However, in that manuscript Yücel and colleagues' reported [72] glutamate levels from a more dorsal anterior cingulate cortex cluster in a sample of women with moderate symptom severity (mean Y-BOCS score of 19). In contrast, our sample included men and women with moderate-to-severe symptoms (mean Y-BOCS score of 28). Thus, the differences between the results of these studies may be partly explained by differences in symptom severity in addition to a different location of the ¹H-MRS cluster.

This study is not without limitations. First, although main results were relatively robust (significant after Bonferroni

correction), they should be seen as preliminary and replicated in wider samples to ensure generalizability. Of note, however, at least two previous studies have also found significant associations between brain metabolite levels (Glx, among others) and CBT in smaller samples (< i.e., 10 subjects or less per group) [42, 43]. Second, almost all OCD patients in our study were taking medication, and some research suggests that SSRIs may affect glutamate levels [73] or fear extinction processes [74], although results are inconclusive (see, e.g., [75, 76]). In any case, we included patients who remained symptomatic after drug treatment, as most patients with OCD are unlikely to receive CBT as the first treatment option [77]. Therefore, our administration of CBT is similar to real clinical practice [78]. Third, glutamate measurements are heavily coupled to glutamine estimates, and various reports coincide in suggesting that short TEs (i.e., TE 30 ms) should be reported in combination with strongly coupled measurements [79–81]. However, we analyzed short and long TEs, and our most robust results were obtained with TE 135 ms. Anyhow, our TE30 ms and TE135 ms measurements were positively correlated, and previous studies have found no conclusive differences between short and long TEs [82]. Finally, the fact that MRS data were acquired during the second MRI session may partially account for the lack of association between glutamate and fear learning in OCD.

To sum up, we have reported an association between glutamate levels in the vmPFC and both fear extinction recall and CBT outcome in adult OCD. We found a significant (and opposite) relationship between these measurements and glutamate levels in the vmPFC. While our methodological approach do not allow us to directly compare our results with those of previous studies and our results should be seen as preliminary, they can be interpreted against the background of previous findings using other neuroimaging techniques showing a clear relationship between vmPFC structure and function and extinction recall and CBT response in OCD [26, 27, 33]. Further research should try to integrate all these different measurements from experimental and clinical settings and, from a multimodal neuroimaging perspective, aim to provide a thorough description of the role of the vmPFC and glutamate neurotransmission in fear extinction and CBT.

Acknowledgements We thank Mohammed R. Milad, Ph.D., for providing the stimuli used in the present study and for his general advice on implementing the paradigm in our laboratory. We thank Dr. Neus Aymamí, Dr. Isabel Sánchez, and Dr. Nadine Riesgo for their help and collaboration in dispensing the CBT to the study patients. This study was funded by Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) [PI13/01958, PI14/00413, PI16/00889, PI16/00950], FEDER funds/European Regional Development Fund (ERDF)—a way to build Europe, a PERIS award from the Ministry of Health of the Generalitat de Catalunya (SLT006/17/249), and AGAUR [2017 SGR 1247]. MC is supported by a grant from the Spanish Ministry for Education, Culture and Sport [FPU13/02141]. IM-Z is supported by a P-FIS grant [FI17/00294] and

CS-M is supported by a ‘Miguel Servet’ contract [CPII16/00048] from the ISCIII.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical standards The study has been approved by the Institutional Review Board of University Hospital of Bellvitge and it has been performed in accordance with the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments. All participants gave written informed consent to participate.

References

- Maren S (2001) Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. *Annu Rev Neurosci* 24:897–931. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.897>
- Pavlov PI (1927) (2010) Conditioned reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. *Ann Neurosci* 17:136–141. <http://doi.org/10.5214/ans.0972-7531.1017309>
- Garakani A, Mathew SJ, Charney DS (2006) Neurobiology of anxiety disorders and implications for treatment. *Mt Sinai J Med* 73:941–949
- Graham BM, Milad MR (2011) Translational research in the neuroscience of fear extinction: implications for anxiety disorders. *Am J Psychiatr* 168:1255–1265. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2011.11040557>
- Milad MR, Rosenbaum BL, Simon NM (2014) Neuroscience of fear extinction: implications for assessment and treatment of fear-based and anxiety related disorders. *Behav Res Ther* 62:17–23. <https://doi.org/10.1016/j.brat.2014.08.006>
- Milad MR, Quirk GJ (2012) Fear extinction as a model for translational neuroscience: 10 years of progress. *Annu Rev Psychol* 63:129–151. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.121208.131631>
- Citri A, Malenka RC (2008) Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacol* 33:18–41. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301559>
- McEntee WJ, Crook TH (1993) Glutamate: its role in learning, memory, and the aging brain. *Psychopharmacology* 111:391–401. <https://doi.org/10.1007/BF02253527>
- Peng S, Zhang Y, Zhang J, Wang H, Ren B (2011) Glutamate receptors and signal transduction in learning and memory. *Mol Biol Rep* 38:453–460. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-0128-9>
- Richter-Levin G, Canevari L, Bliss TV (1995) Long-term potentiation and glutamate release in the dentate gyrus: links to spatial learning. *Behav Brain Res* 66:37–40. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(94\)00121-u](https://doi.org/10.1016/0166-4328(94)00121-u)
- Riedel G, Platt B, Micheau J (2003) Glutamate receptor function in learning and memory. *Behav Brain Res* 140:1–47. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(02\)00272-3](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(02)00272-3)
- Myers KM, Davis M (2002) Behavioral and neural analysis of extinction. *Neuron* 36:567–584. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)01064-4](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)01064-4)
- Davis M (2011) NMDA receptors and fear extinction: implications for cognitive behavioral therapy. *Dialogues Clin Neurosci* 13:463–474
- Myers KM, Carlezon WA Jr, Davis M (2010) Glutamate receptors in extinction and extinction-based therapies for psychiatric illness. *Neuropsychopharmacol* 36:274. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.88>
- Hugues S, Garcia R, Léna I (2007) Time course of extracellular catecholamine and glutamate levels in the rat medial prefrontal cortex during and after extinction of conditioned fear. *Synapse* 61:933–937. <https://doi.org/10.1002/syn.20448>
- Burgos-Robles A, Vidal-Gonzalez I, Santini E, Quirk GJ (2007) Consolidation of fear extinction requires NMDA receptor-dependent bursting in the ventromedial prefrontal cortex. *Neuron* 53:871–880. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.02.021>
- Milad MR, Quirk GJ (2002) Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature* 420:70–74. <https://doi.org/10.1038/nature01138>
- Morgan MA, LeDoux JE (1995) Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. *Behav Neurosci* 109:681–688. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.109.4.681>
- Morgan MA, Romanski LM, LeDoux JE (1993) Extinction of emotional learning: contribution of medial prefrontal cortex. *Neurosci Lett* 163:109–113. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(93\)90241-C](https://doi.org/10.1016/0304-3940(93)90241-C)
- Morgan MA, Schulkin J, LeDoux JE (2003) Ventral medial prefrontal cortex and emotional perseveration: the memory for prior extinction training. *Behav Brain Res* 146:121–130. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.021>
- Quirk GJ, Russo GK, Barron JL, Lebron K (2000) The role of ventromedial prefrontal cortex in the recovery of extinguished fear. *J Neurosci* 20:6225–6231. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-16-06225.2000>
- Milad MR, Vidal-Gonzalez I, Quirk GJ (2004) Electrical stimulation of medial prefrontal cortex reduces conditioned fear in a temporally specific manner. *Behav Neurosci* 118:389–394. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.118.2.389>
- Quirk GJ, Likhtik E, Pelletier JG, Paré D (2003) Stimulation of medial prefrontal cortex decreases the responsiveness of central amygdala output neurons. *J Neurosci* 23:8800–8807. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-25-08800.2003>
- Vidal-Gonzalez I, Vidal-Gonzalez B, Rauch SL, Quirk GJ (2006) Microstimulation reveals opposing influences of prelimbic and infralimbic cortex on the expression of conditioned fear. *Learn Mem* 13:728–733. <https://doi.org/10.1101/lm.306106>
- Phelps EA, Delgado MR, Nearing KI, LeDoux JE (2004) Extinction learning in humans: role of the amygdala and vmPFC. *Neuron* 43:897–905. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.08.042>
- Kalisch R, Korenfeld E, Stephan KE, Weiskopf N, Seymour B, Dolan RJ (2006) Context-dependent human extinction memory is mediated by a ventromedial prefrontal and hippocampal network. *J Neurosci* 26:9503–9511. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2021-06.2006>
- Milad MR, Quinn BT, Pitman RK, Orr SP, Fischl B, Rauch SL (2005) Thickness of ventromedial prefrontal cortex in humans is correlated with extinction memory. *PNAS (USA)* 102:10706–10711. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502441102>
- Lewin AB, Wu MS, McGuire JF, Storch EA (2014) Cognitive behavior therapy for obsessive-compulsive and related disorders. *Psychiatr Clin North Am* 37:415–445. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2014.05.002>
- McKay D, Sookman D, Neziroglu F, Wilhelm S, Stein DJ, Kyrios M, Matthews K, Veale D, Accreditation Task Force of The Canadian Institute for Obsessive Compulsive Disorders (2015) Efficacy of cognitive-behavioral therapy for obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Res* 227:104–113. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.02.004>
- Öst LG, Havnen A, Hansen B, Kvale G (2015) Cognitive behavioral treatments of obsessive-compulsive disorder. A systematic review and meta-analysis of studies published 1993–2014.

- Clin Psychol Rev 40:156–169. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2015.06.003>
31. Wenzel A (2017) Basic strategies of cognitive behavioral therapy. *Psychiatr Clin North Am* 40:597–609. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2017.07.001>
 32. Fullana MA, Cardoner N, Alonso P, Subirà M, López-Solà C, Pujol J, Segalàs C, Real E, Bossa M, Zacur E, Martínez-Zalacain I, Bulbena A, Menchón JM, Olmos S, Soriano-Mas C (2014) Brain regions related to fear extinction in obsessive-compulsive disorder and its relation to exposure therapy outcome: a morphometric study. *Psychol Med* 44:845–856. <https://doi.org/10.1017/S0033291713001128>
 33. Fullana MA, Zhu X, Alonso P, Cardoner N, Real E, López-Solà C, Segalàs C, Subirà M, Galfalvy H, Menchón JM, Simpson HB, Marsh R, Soriano-Mas C (2017) Basolateral amygdala-ventromedial prefrontal cortex connectivity predicts cognitive behavioural therapy outcome in adults with obsessive-compulsive disorder. *J Psychiatry Neurosci* 42:378–385. <https://doi.org/10.1503/jpn.160215>
 34. Hofmann SG, Otto MW, Pollack MH, Smits JA (2015) D-cycloserine augmentation of cognitive behavioral therapy for anxiety disorders: an update. *Curr Psychiatry Rep* 17:532. <https://doi.org/10.1007/s11920-014-0532-2>
 35. Klass A, Glaubitz B, Tegenthoff M, Lissek S (2017) d-Cycloserine facilitates extinction learning and enhances extinction-related brain activation. *Neurobiol Learn Mem* 144:235–247. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.08.003>
 36. Kushner MG, Kim SW, Donahue C, Thuras P, Adson D, Kotlyar M, McCabe J, Peterson J, Foa EB (2007) D-cycloserine augmented exposure therapy for obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry* 62:835–838. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.12.020>
 37. Otto MW, Kredlow MA, Smits JAJ, Hofmann SG, Tolin DF, de Kleine RA, van Minnen A, Evins AE, Pollack MH (2016) Enhancement of psychosocial treatment with d-cycloserine: models, moderators, and future directions. *Biol Psychiatry* 80:274–283. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.09.007>
 38. Rodrigues H, Figueira I, Lopes A, Gonçalves R, Mendlowicz MV, Coutinho ESF, Ventura P (2014) Does d-cycloserine enhance exposure therapy for anxiety disorders in humans? A meta-analysis. *PLoS One* 9:e93519. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093519>
 39. Mataix-Cols D, Fernández de la Cruz L, Monzani B et al (2017) D-Cycloserine augmentation of exposure-based cognitive behavior therapy for anxiety, obsessive-compulsive, and posttraumatic stress disorders: a systematic review and meta-analysis of individual participant data. *JAMA Psychiatry* 74:501–510. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2016.3955>
 40. Ori R, Amos T, Bergman H, Soares-Weiser K, Ipser JC, Stein DJ (2015) Augmentation of cognitive and behavioural therapies (CBT) with d-cycloserine for anxiety and related disorders. *Cochrane Database Sys Rev*. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd007803.pub2>
 41. O'Neill J, Piacentini J, Chang S et al (2017) Glutamate in pediatric obsessive-compulsive disorder and response to cognitive-behavioral therapy: randomized clinical trial. *Neuropsychopharmacology* 42:2414–2422. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.77>
 42. O'Neill J, Piacentini JC, Chang S, Levitt JG, Rozenman M, Bergman L, Salamon N, Alger JR, McCracken JT (2012) MRSI correlates of cognitive-behavioral therapy in pediatric obsessive-compulsive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 36:161–168. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2011.09.007>
 43. O'Neill J, Gorbis E, Feusner JD, Yip JC, Chang S, Maidment KM, Levitt JG, Salamon N, Ringman JM, Saxena S (2013) Effects of intensive cognitive-behavioral therapy on cingulate neurochemistry in obsessive-compulsive disorder. *J Psychiatr Res* 47:494–504. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2012.11.010>
 44. Zurowski B, Weber-Fahr W, Freyer T, Wahli K, Büchert M, Kuel A et al (2007). Neurochemical abnormalities in patients with obsessive-compulsive disorder diminish in the course of behavior therapy. Poster session presentation at the meeting of the Society for Neuroscience 37th Annual Meeting, San Diego
 45. Milad MR, Furtak SC, Greenberg JL, Keshaviah A, Im JJ, Falkenstein MJ, Jenike M, Rauch SL, Wilhelm S (2013) Deficits in conditioned fear extinction in obsessive-compulsive disorder and neurobiological changes in the fear circuit. *JAMA Psychiatry* 70:608–618. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.914>
 46. First M, Spitzer R, Gibbon M, Williams J (1996) Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders, Clinician Version (SCID-CV). American Psychiatric Press Inc, Washington (DC)
 47. Pallanti S, Hollander E, Bienstock C, Koran L, Leckman J, Marazziti D et al (2002) Treatment non-response in OCD: methodological issues and operational definitions. *Int J Neuropsychopharmacol* 5:181–191. <https://doi.org/10.1017/S1461145702002900>
 48. Koran LM, Simpson HB (2013) Guideline watch (2013): practice guideline for the treatment of patients with obsessive-compulsive disorder. APA practice guidelines. American Psychiatric Association, Arlington, pp 1–22
 49. First M, Gibbon M, Spitzer R, Williams J, Benjamin LS (1997) Structured clinical interview for DSM-IV Axis II personality disorders (SCID-II). American Psychiatric Press Inc, Washington (DC)
 50. Bobes J (1998) A Spanish validation study of the mini international neuropsychiatric interview. *Eur Psychiatr* 13:198s–199s. [https://doi.org/10.1016/S0924-9338\(99\)80240-5](https://doi.org/10.1016/S0924-9338(99)80240-5)
 51. Milad MR, Wright CI, Orr SP, Pitman RK, Quirk GJ, Rauch SL (2007) Recall of fear extinction in humans activates the ventromedial prefrontal cortex and hippocampus in concert. *Biol Psychiatry* 62:446–454. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.10.011>
 52. Choi C, Coupland NJ, Bhardwaj PP, Malykhin N, Gheorghiu D, Allen PS (2006) Measurement of brain glutamate and glutamine by spectrally-selective refocusing at 3 Tesla. *Magn Reson Med* 55:997–1005. <https://doi.org/10.1002/mrm.20875>
 53. Hurd R, Sailasuta N, Srinivasan R, Vigneron DB, Pelletier D, Nelson SJ (2004) Measurement of brain glutamate using TE-averaged PRESS at 3T. *Magn Reson Med* 51:435–440. <https://doi.org/10.1002/mrm.20007>
 54. Kanowski M, Kaufmann J, Braun J, Bernarding J, Tempelmann C (2004) Quantitation of simulated short echo time ¹H human brain spectra by LCModel and AMARES. *Magn Reson Med* 51:904–912. <https://doi.org/10.1002/mrm.20063>
 55. Schubert F, Gallinat J, Seifert F, Rinneberg H (2004) Glutamate concentrations in human brain using single voxel proton magnetic resonance spectroscopy at 3 Tesla. *Neuroimage* 21:1762–1771. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2003.11.014>
 56. Yahya A, Mädler B, Fallone BG (2008) Exploiting the chemical shift displacement effect in the detection of glutamate and glutamine (Glx) with PRESS. *J Magn Reson* 191:120–127. <https://doi.org/10.1016/j.jmr.2007.12.007>
 57. Provencher SW (1993) Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med* 30:672–679. <https://doi.org/10.1002/mrm.1910300604>
 58. Provencher SW (2001) Automatic quantitation of localized in vivo ¹H spectra with LCModel. *NMR Biomed* 14:260–264. <https://doi.org/10.1002/nbm.698>
 59. Pozza A, Dettore D (2017) Drop-out and efficacy of group versus individual cognitive behavioural therapy: what works best for Obsessive-Compulsive Disorder? A systematic review and

- meta-analysis of direct comparisons. *Psychiatry Res* 258:24–36. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2017.09.056>
60. Kozak MJ, Foa EB (1997) Mastery of obsessive-compulsive disorder. A cognitive-behavioral approach. The Psychological Corporation, San Antonio
 61. Hamilton M (1960) A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 23:56–62. <https://doi.org/10.1136/jnnp.23.1.56>
 62. Holt DJ, Coombs G, Zeidan MA, Goff DC, Milad MR (2012) Failure of neural responses to safety cues in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 69:893–903. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.2310>
 63. Cliff N (1996) Answering ordinal questions with ordinal data using ordinal statistics. *Multivariate Behav Res* 31:331–350. https://doi.org/10.1207/s15327906mbr3103_4
 64. Romano J, Kromrey J, Coraggio J, Skowronek J (2006) Appropriate statistics for ordinal level data: Should we really be using t test and Cohen's d for evaluating group differences on the NSSE and other surveys? Poster session presentation at the meeting of the Florida Association of Institutional Research, Cocoa Beach
 65. Bédard MJ, Chantal S (2011) Brain magnetic resonance spectroscopy in obsessive-compulsive disorder: the importance of considering subclinical symptoms of anxiety and depression. *Psychiatry Res* 192:45–54. <https://doi.org/10.1016/j.psychresns.2010.10.008>
 66. Simpson HB, Shungu DC, Bender J, Mao X, Xu X, Slifstein M, Kegeles LS (2012) Investigation of cortical glutamate-glutamine and γ -aminobutyric acid in obsessive-compulsive disorder by proton magnetic resonance spectroscopy. *Neuropsychopharmacology* 37:2684–2692. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.132>
 67. Rosenberg DR, Mirza Y, Russell A, Tang J, Smith JM, Banerjee SP, Bhandari R, Rose M, Ivey J, Boyd C, Moore GJ (2004) Reduced anterior cingulate glutamatergic concentrations in childhood OCD and major depression versus healthy controls. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 43:1146–1153. <https://doi.org/10.1097/01.chi.0000132812.44664.2d>
 68. Berry AC, Rosenfield D, Smits JAJ (2009) Extinction retention predicts improvement in social anxiety symptoms following exposure therapy. *Depress Anxiety* 26:22–27. <https://doi.org/10.1002/da.20511>
 69. Ball TM, Knapp SE, Paulus MP, Stein MB (2017) Brain activation during fear extinction predicts exposure success. *Depress Anxiety* 34:257–266. <https://doi.org/10.1002/da.22583>
 70. Forcadell E, Torrents-Rodas D, Vervliet B, Leiva D, Tortella-Feliu M, Fullana MA (2017) Does fear extinction in the laboratory predict outcomes of exposure therapy? A treatment analog study. *Int J Psychophysiol* 121:63–71. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2017.09.001>
 71. Quirk GJ, Mueller D (2008) Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *Neuropsychopharmacology* 33:56–72. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301555>
 72. Yücel M, Wood SJ, Wellard RM, Harrison BJ, Fornito A, Pujol J, Velakoulis D, Pantelis C (2008) Anterior cingulate glutamate-glutamine levels predict symptom severity in women with obsessive-compulsive disorder. *Aust N Z J Psychiatry* 42:467–477. <https://doi.org/10.1080/00048670802050546>
 73. Mussazi L, Treccani G, Mallei A, Popoli M (2013) The action of antidepressants on the glutamate system: regulation of glutamate release and glutamate receptors. *Biol Psychiatry* 73:1180–1188. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.11.009>
 74. Fitzgerald PJ, Seemann JR, Maren S (2014) Can fear extinction be enhanced? A review of pharmacological and behavioral findings. *Brain Res Bull* 105:46–60. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2013.12.007>
 75. Burghardt NS, Sigurdsson T, Gorman JM, McEwen BS, LeDoux JE (2013) Chronic antidepressant treatment impairs the acquisition of fear extinction. *Biol Psychiatry* 73:1078–1086. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.10.012>
 76. Lázaro L, Bargalló N, Andrés S, Falcón C, Morer A, Junqué C, Castro-Fornieles J (2012) Proton magnetic resonance spectroscopy in pediatric obsessive-compulsive disorder: longitudinal study before and after treatment. *Psychiatry Res* 201:17–24. <https://doi.org/10.1016/j.psychresns.2011.01.017>
 77. Boschen MJ, Drummond LM (2012) Community treatment of severe, refractory obsessive-compulsive disorder. *Behav Res Ther* 50:203–209. <https://doi.org/10.1016/j.brat.2012.01.002>
 78. Koran LM, Hanna GL, Hollander E, Nestadt G, Simpson HB, Association American Psychiatric (2007) Practice guideline for the treatment of patients with obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry* 164:5–53
 79. Hájek M, Burian M, Dezortová M (2000) Application of LCModel for quality control and quantitative in vivo ¹H MR spectroscopy by short echo time STEAM sequence. *MAGMA* 10:6–17. <https://doi.org/10.1007/BF02613107>
 80. Ramadan S, Lin A, Stanwell P (2013) Glutamate and glutamine: a review of In Vivo MRS in the human brain. *NMR in Biomed* 26:1630–1646. <https://doi.org/10.1002/nbm.3045>
 81. Wijtenburg SA, Knight-Scott J (2011) Very short echo time improves the precision of glutamate detection at 3T in ¹H magnetic resonance spectroscopy. *J Magn Reson Imaging* 34:645–652. <https://doi.org/10.1002/jmri.22638>
 82. Maddock RJ, Casazza GA, Fernandez DH, Maddock MI (2016) Acute modulation of cortical glutamate and GABA content by physical activity. *J Neurosci* 36:2449–2457. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3455-15.2016>

4.2 Artículo publicado 2

Título del artículo:

Neural correlates of fear conditioning and fear extinction and its association with cognitive-behavioral therapy outcome in adults with obsessive-compulsive disorder; Cano M (*), **Martínez-Zalacaín I (*)**, Giménez M, Torrents-Rodas D, Real E, Alonso P et al.; Behav Res Ther. 2021 Sep; 144:103927. doi: 10.1016/j.brat.2021.103927. Epub 2021 Jul 1

Disponible a través de la URL:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0005796721001261?via%3Dihub>

Resumen:

Antecedentes: Modelos neurobiológicos recientes del trastorno obsesivo compulsivo sugieren que los procesos de condicionamiento aversivo y sus regiones cerebrales implicadas podrían llegar a explicar la etiología del trastorno y la respuesta a su tratamiento.

Métodos: Se comparó la actividad cerebral, medida a través de resonancia magnética funcional, durante un protocolo completo de condicionamiento aversivo (condicionamiento del miedo, aprendizaje de la extinción del miedo y recuerdo de la extinción del miedo) entre pacientes con trastorno obsesivo compulsivo (n = 18) y controles sanos (n = 18). Paralelamente, se evaluó la posible asociación de la actividad cerebral durante la tarea de condicionamiento aversivo y la respuesta a la terapia cognitivo-conductual en pacientes con trastorno obsesivo compulsivo.

Resultados: Los pacientes con trastorno obsesivo compulsivo mostraron menor activación de la ínsula y la corteza cingulada anterior dorsal durante el condicionamiento del miedo en comparación con los controles sanos. Además, la actividad de la ínsula durante el condicionamiento del miedo se asoció negativamente a la respuesta a la terapia cognitivo-conductual en pacientes con trastorno obsesivo compulsivo.

Conclusiones: Los resultados de este estudio sugieren que los pacientes con trastorno obsesivo compulsivo se caracterizan por una actividad cerebral alterada durante el condicionamiento aversivo, y que dicha actividad puede llegar a convertirse en un biomarcador de predicción de respuesta a la terapia cognitivo-conductual.



Neural correlates of fear conditioning and fear extinction and its association with cognitive-behavioral therapy outcome in adults with obsessive-compulsive disorder

Marta Cano^{a,b,1}, Ignacio Martínez-Zalacaín^{c,d,1}, Mònica Giménez^c, David Torrents-Rodas^e, Eva Real^c, Pino Alonso^c, Cinto Segalàs^c, Josep Munuera^f, José Manuel Menchón^{c,d}, Narcís Cardoner^{a,g}, Carles Soriano-Mas^{b,c,*}, Miquel A. Fullana^{h,i,**}

^a Mental Health Department, Unitat de Neurociència Traslacional, Parc Tauli University Hospital, Institut d'Investigació i Innovació Sanitària Parc Tauli (I3PT), Universitat Autònoma de Barcelona, CIBERSAM, Carlos III Health Institute, Sabadell, Spain

^b Department of Psychobiology and Methodology in Health Sciences, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Spain

^c Department of Psychiatry, Bellvitge Biomedical Research Institute-IDIBELL, Bellvitge University Hospital, and CIBERSAM, Carlos III Health Institute, L'Hospitalet de Llobregat, Spain

^d Department of Clinical Sciences, School of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain

^e Faculty of Psychology, Philipps-Universität Marburg, Marburg, Germany

^f Diagnostic Imaging Department, Fundació de Recerca Hospital Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat, Spain

^g Department of Psychiatry and Legal Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Spain

^h Adult Psychiatry and Psychology Department, Institute of Neurosciences, Hospital Clinic, Barcelona, Spain

ⁱ Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, CIBERSAM, Barcelona, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

Obsessive-compulsive disorder
Cognitive-behavioral therapy
Fear conditioning
Fear extinction
Insula
fMRI

ABSTRACT

Recent neurobiological models of obsessive-compulsive disorder (OCD) have highlighted the potential role of abnormalities in fear learning processes. We compared brain activation -as assessed with whole-brain functional magnetic resonance imaging- during fear conditioning, fear extinction learning, and fear extinction recall in patients with OCD ($n = 18$) and healthy controls ($n = 18$). We also investigated whether brain activation during any of these processes was associated with exposure-based cognitive-behavioral therapy (CBT) outcome in patients. Patients with OCD showed significantly lower brain activation in the right insulo-opercular region and the dorsal anterior cingulate cortex during fear conditioning in comparison to healthy controls. Moreover, brain activation in the right insula predicted CBT outcome, with lower activation predicting a better outcome. Brain activation during extinction learning or recall did not differ between patients and controls or predicted CBT outcome in patients. Our results suggest that neural activations during fear conditioning in patients with OCD are abnormal and predict CBT outcome.

1. Introduction

Obsessive-compulsive disorder (OCD) is a common and debilitating mental disorder characterized by recurrent intrusive thoughts, images or impulses (obsessions), and repetitive behaviors to neutralize these obsessions (compulsions) (American Psychiatric Association, 2013). Neurobiological models of OCD have traditionally highlighted the role of behavioral inhibition processes and cortico-striatal circuits (including

brain regions such as orbitofrontal and dorsolateral prefrontal cortices, supplementary motor area, and different striatal territories) (Menzies et al., 2008; Van den Heuvel et al., 2016). Other models, however, have emphasized the role of fear learning processes (e.g., fear conditioning, fear extinction, and fear extinction recall) and its associated brain regions (amygdala, hippocampus, and the ventromedial prefrontal cortex [vmPFC]) (Milad & Rauch, 2012).

Although fear learning processes and their supporting brain

* Corresponding author. Department of Psychiatry, Bellvitge University Hospital-IDIBELL, Feixa Llarga s/n, Hospitalet de Llobregat, 08907, Barcelona, Spain.

** Corresponding author. Adult Psychiatry and Psychology Department, Institute of Neurosciences, Hospital Clinic, Rosselló 140, 08036, Barcelona, Spain.

E-mail addresses: csoriano@idibell.cat (C. Soriano-Mas), mafullana@clinic.cat (M.A. Fullana).

¹ Equal Contribution.

mechanisms could be altered in OCD, to date, only two studies have investigated the neural correlates of fear learning in adults with OCD using functional neuroimaging, with divergent findings. Specifically, using functional magnetic resonance imaging (fMRI), [Milad et al. \(2013\)](#) showed reduced brain activation in the caudate and hippocampus during fear conditioning, as well as in the cerebellum, posterior cingulate cortex, and putamen during extinction recall in patients with OCD compared to healthy controls. Moreover, patients with OCD showed reduced brain activation in different regions of the vmPFC across fear conditioning, extinction, and extinction recall. By contrast, in a more recent fMRI study, [Apergis-Schoute et al. \(2017\)](#) found increased vmPFC brain activation during fear conditioning in patients with OCD compared to healthy controls. This study did not assess fear extinction.

Another important motivation for studying fear learning processes in OCD is that exposure-based cognitive-behavioral therapy (CBT), one of the most effective treatments for anxiety-related disorders -including OCD-, is based upon the principles of fear extinction learning ([Craske, Hermans, & Vervliet, 2018](#); [Milad, Rosenbaum, & Simon, 2014](#); [Myers & Davis, 2002](#); [Pittig, van den Berg, & Vervliet, 2016](#)). In this sense, some indirect pieces of evidence suggest that neural measures of fear extinction learning may be potential predictors of CBT outcome. For example, a recent study showed that the cortical thickness of brain regions associated with fear extinction (i.e., the rostral anterior cingulate cortex, within the vmPFC) was associated with CBT outcome in OCD patients ([Fullana et al., 2014](#)). In the same sample, a neural measure (resting-state functional connectivity) of the “communication” between the basolateral amygdala and the vmPFC -a circuit implicated in fear extinction in rodent research ([Furini, Myskiw, & Izquierdo, 2014](#))- also predicted CBT outcome ([Fullana et al., 2017](#)). However, whether a neural measure of brain activation during fear extinction (or fear conditioning) predicts CBT outcome for OCD is not yet known.

Here, in addition to disambiguating between the divergent results of the two neuroimaging studies assessing fear conditioning in OCD, we aimed at, for the first time, assessing whether brain activations during fear learning were associated with CBT outcome. According to previous research, we hypothesized that patients with OCD would differ from healthy controls in brain activation across different brain regions, including the vmPFC, both during fear conditioning and extinction. The heterogeneous results from the two previous studies did not allow for a more specific hypothesis in anatomical terms or in the directionality of findings. Moreover, we also hypothesized that brain activation during extinction learning would correlate with CBT outcome in patients with OCD. We conducted whole-brain as well as region of interest (ROI) analyses, the latter focused on the vmPFC given its alleged role in fear learning processes ([Apergis-Schoute et al., 2017](#)) and CBT outcome prediction in anxiety-related disorders ([Ball, Knapp, Paulus, & Stein, 2017](#)).

2. Materials and methods

2.1. Participants

We recruited 18 adult patients with a principal diagnosis of OCD (≥ 1 year) from the OCD unit of Bellvitge University Hospital (Barcelona, Spain), and 18 healthy controls (HCs), matched by age and sex, from the local community through word of mouth. Patients' diagnoses were established independently by two psychiatrists using the Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders-Clinician Version (SCID-IV; [First, Spitzer, Gibbon, & Williams, 1996](#)). The absence of mental disorders in the HC group was confirmed using the Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI; [Sheehan et al., 1998](#)), which was administered by a trained psychiatrist.

Exclusion criteria for all participants were: age < 18 or > 65 years; substance abuse or dependence (except nicotine) during the previous 12 weeks; personality disorders, as assessed by the Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis II Disorders (SCID-II; [First et al., 1996](#));

psychotic or bipolar disorders; mental retardation; current/past serious medical or neurological disorder (except tic disorders); a history of loss of consciousness for > 30 min; and any contraindication for magnetic resonance imaging (MRI) scanning. Patients with comorbid depressive and anxiety disorders were not excluded provided OCD was the principal and most severe diagnosis.

Patients with OCD were eligible for CBT if they had not previously received CBT and had not responded (Yale-Brown Obsessive-Compulsive Scale [YBOCS] ([Goodman et al., 1989](#)) score reduction $< 35\%$) or had shown only partial response (YBOCS score reduction $< 25\%$) to at least one trial (12-weeks) with a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), following established guidelines ([Koran & Simpson, 2013](#)). Medication was kept at a stable dose throughout the study.

The study was approved by the Ethics committee in Clinical Research of Bellvitge University Hospital, and all participants gave written informed consent to participate in the study, which was conducted according to the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments.

2.2. Study overview

All participants underwent a validated two-day experimental protocol ([Milad et al., 2007](#)) where brain activation (fMRI) and skin conductance responses (SCR) were assessed during fear conditioning, extinction learning, and extinction recall. Subsequently, patients with OCD received a course of CBT (see below). We also assessed glutamate levels in the vmPFC using proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS) ([Giménez et al., 2020](#)). We here include some of the SCR analyses and results to facilitate the interpretation of brain activation findings. For the full results, see [Giménez et al. \(2020\)](#).

2.3. Fear conditioning and extinction protocol

The protocol consisted of three different phases during day 1: habituation (data not shown), fear conditioning, and extinction learning. On day 2 (24 h later) participants underwent a single phase of extinction recall. The conditioned stimuli (CS) were photographs of two rooms containing lamps of 3 different colors. The unconditioned stimulus (US) was a 100 ms electric shock delivered through electrodes attached to the dominant hand. During **fear conditioning**, two CS (i.e., two lamp colors) were paired to the US 200 ms before the CS offset (CS+) at a 60% reinforcement rate, while the other CS was not (CS-). During **extinction learning**, two of the three CS were presented: one CS+ not followed by the US (extinguished CS+=CS+E) and the CS-. The other CS+ did not undergo extinction (unextinguished CS+=CS+U). Lastly, during **extinction recall**, the CS+E, the CS+U, and the CS- were presented without the US. Each experimental phase included 16 CS+ (i.e., 8 CS+E and 8 CS+U during fear conditioning and extinction recall and 16 CS+E during extinction learning) and 16 CS- trials. Overall, in each trial, the room (context) was presented for 9 s: 3 s alone followed by 6 s of stimuli presentation (CS+ or CS-), and the mean inter-trial interval was 15 s. CS- trials were interspersed among the CS+ trials throughout all experimental phases. The selection of the colors of the different stimuli was counterbalanced across subjects.

The protocol was displayed on a MRI compatible BOLDscreen 24 LCD (Cambridge Research Systems) using E-Prime (Version 2.0.10.356, www.pstnet.com) software. SCR was acquired using an EDA100c MRI module and electrical stimulation was delivered using STMISOC adapter plugged into the STM100c module, both connected to a Biopac MP150 Amplifier (Biopac Systems Inc.). AcqKnowledge 4.2.0 (Biopac Systems, Inc) was used for SCR signal processing and to deliver electric shocks. Beginning at 0.2 milliamps (mA) and increasing following the preset constant current levels provided by the stimulator to a maximum of 50 mA, immediately before the fMRI session, participants chose a stimulus level that was “highly uncomfortable, but not painful”.

Due to technical issues during data acquisition, SCR and fMRI data

were available for 17 patients with OCD and 17 HCs during fear conditioning, 16 patients and 18 HCs during extinction learning and 17 patients and 18 HCs during extinction recall. SCR was collected and analyzed following Milad, Orr, Pitman, and Rauch (2005) (see Giménez et al. (2020)).

2.4. Functional MRI data acquisition and preprocessing

Functional imaging data were acquired with a 3-T scanner (MAGNETOM Verio, Siemens Healthcare Sector, Erlangen, Germany), equipped with a 32-channel head coil and a single-shot echoplanar imaging (EPI) software. Imaging parameters were as follows: repetition time = 2000 ms; echo time = 25 ms; pulse angle = 78°; field of view 224 × 224 mm; matrix size = 72 × 72 pixels; in-plane resolution = 3.1 × 3.1 mm²; slice thickness = 3 mm; interslice gap = 0.54 mm. Thirty-three interleaved slices parallel to the anterior-posterior commissure line were acquired in ascending direction to cover the whole brain. For each participant, three 12.56-min functional sequences (corresponding to fear conditioning, extinction learning and extinction recall, respectively) were acquired generating 384 whole-brain EPI volumes per sequence. The first four (additional) images from each run were discarded to allow the magnetization to reach equilibrium. For anatomical reference, we also acquired a high-resolution T1-weighted anatomical image for each participant with 176 slices (repetition time = 2100 ms; echo time = 2.67 ms; flip angle = 9°; field of view 256 × 256 pixels; in-plane resolution = 1 × 1 mm²; slice thickness = 1 mm).

Imaging data were processed on a Microsoft Windows platform using MATLAB 7.14 (The MathWorks Inc, Natick, Mass) and Statistical Parametric Mapping (SPM12; The Wellcome Department of Imaging Neuroscience, London, UK). Slice timing correction was applied to adjust for time acquisition differences across slices. Motion correction was performed by aligning (within subject) each time-series to the mean image using a least-squares minimization and a 6-parameter (rigid body) spatial transformation. These realigned functional sequences were subsequently coregistered to each participant's anatomical scan, which had been previously normalized (Montreal Neurological Institute [MNI] space) to the anatomical SPM's T1 scan using Diffeomorphic Anatomical Registration Through Exponentiated Lie Algebra (DARTEL). Normalization parameters were then applied to the coregistered functional images, which were finally smoothed with an 8-mm full-width at half-maximum (FWHM) isotropic Gaussian kernel.

2.5. Cognitive-behavior therapy and assessment of outcome

Cognitive-behavior therapy (CBT) focused on exposure and ritual prevention and was provided in group (except for 2 patients, who received individual CBT) by an experienced therapist who followed a treatment manual (Kozak & Foa, 1997) and was blind to the study hypotheses. All patients received 20 weekly sessions lasting approximately 90–120 min each (45 min for the individual sessions). The goal was for patients to stop their rituals as early as possible during therapy. Between sessions, homework (60 min daily) consisting of exposure to stimuli similar to those addressed in the sessions was assigned. Other clinicians not involved in therapy assessed OCD symptoms before and after CBT using the YBOCS (Goodman et al., 1989). We operationalized CBT outcome as YBOCS pre-CBT – YBOCS post-CBT. Of the 18 patients with OCD who initiated CBT, four did not finish the treatment. Therefore, outcome data were available for 14 patients.

2.6. Statistical analyses

2.6.1. Skin conductance analyses

We compared SCR responses during the fear conditioning and extinction protocol using a repeated-measures Analysis of Variance (ANOVA) for each phase (fear conditioning, extinction learning, and extinction recall), with CS type (first 8 CS+ vs. first 8 CS- for fear

conditioning, last 8 CS+E vs. last 8 CS- for extinction learning, and first 4 CS+E vs. first 4 CS+U for extinction recall) as within-subjects factor and group (patients with OCD vs. HCs) as between-subjects factor (see Giménez et al. (2020)).

2.6.2. Whole-brain fMRI analyses

First-level contrast images during fear conditioning, extinction learning, and extinction recall were calculated for each participant. Following the strategy used in SCR analyses, fear conditioning was assessed by contrasting the first 8 CS+ trials to the first 8 CS- trials. Therefore, in this phase, regressors modeled the fixation cross, the context alone, US presentation, the first 8 CS+ trials, the first 8 CS- trials, and the motion parameters (i.e., 3 translations and 3 rotations). Also similar to SCR analyses, extinction learning was assessed by contrasting the last 8 CS+E trials to the last 8 CS- trials and regressors in this phase modeled the fixation cross, the context alone, the last 8 CS+E trials, the last 8 CS- trials, and the motion parameters. Finally, extinction recall was assessed by contrasting the first 4 CS+E trials to the first CS+U trials, and regressors modeled the fixation cross, the context alone, the first 4 CS+E trials, the first 4 CS+U trials, and the motion parameters. Across all phases, the Blood Oxygenation Level Dependent (BOLD) signal was convolved with the SPM12 canonical hemodynamic response function, and a 128-s high-pass filter was used to remove low-frequency drifts.

First-level contrast images for each participant were included in second-level (group) analyses. We initially estimated the within-group activity patterns using six one-sample t-tests (one per group and fear learning process) thresholded, for significance testing, at $p < 0.05$, cluster-level family-wise-error (FWE) corrected for multiple comparisons. From these analyses, we created three masks (combining information from both groups for each experimental phase thresholded at $p < 0.001$, uncorrected at the voxel-level, with a cluster extent of 100 voxels), within which we investigated between-group differences in the different experimental phases with two-sample t-tests at a cluster-level FWE corrected significance threshold of $p < 0.05$, using small-volume correction procedures to limit this correction to voxels within the above-described masks. To assess the association between brain activation during each experimental phase and CBT outcome in patients with OCD, we used 3 separate whole-brain multiple regression analyses, with a significance threshold of $p < 0.05$, cluster-level FWE corrected for multiple comparisons.

2.6.3. Region of interest (ROI) analyses

We defined a bilateral anatomical mask of the vmPFC using the WFU_PickAtlas toolbox (Wake Forest University School of Medicine; Maldjian, Laurienti, Kraft, & Burdette, 2003) to assess with greater specificity whether brain (de)activations in the vmPFC during each experimental phase differed between patients with OCD and HCs and whether they were associated to CBT outcome in patients with OCD. Nevertheless, since this is a large mask (8834 voxels), which may hamper finding significant results, we also performed these region of interest analyses with two smaller masks (3606 and 4109 voxels each), resulting from the interaction between the WFU_PickAtlas mask and the (positive and negative) voxels (accounting for activations and deactivations, respectively) with non-zero values from our previous meta-analysis on fear extinction (Fullana et al., 2018). In these analyses, voxels surviving a FWE small-volume corrected significance threshold of $p < 0.05$ were deemed significant.

3. Results

3.1. Sample characteristics and CBT outcome

The characteristics of the study participants are presented in Table 1. Patients with OCD showed a significant improvement in OCD symptoms following CBT [YBOCS score pre-CBT: 26.78 (SD = 4.76), YBOCS score

Table 1
Sociodemographic and clinical characteristics of study participants.

	Patients with OCD	Healthy controls	Statistic ^a	p value
Age, years: mean (SD)	40.56 (11.91)	35.61 (9.97)	-1.351	0.186
Sex, male: n (%)	7 (38.90)	10 (55.60)	1.003	0.317
Age at onset, years: mean (SD)	19.28 (10.11)			
YBOCS pre-CBT: mean (SD)				
Obsessions	13.50 (2.43)			
Compulsions	13.28 (2.44)			
Total Score	26.78 (4.76)			
YBOCS post-CBT: mean (SD)				
Obsessions	8.36 (3.65)			
Compulsions	8.07 (3.22)			
Total Score	16.43 (6.71)			
Comorbidity: n (%)				
Affective disorders	5 (27.78)			
Anxiety disorders	2 (11.12)			
Pharmacological treatment: n (%)	16 (88.89)			
SSRI	10 (55.55)			
SSRI + Antipsychotics	6 (33.33)			

CBT, Cognitive Behavioral Therapy; OCD, Obsessive-Compulsive Disorder; SD, standard deviation; SSRI, selective serotonin reuptake inhibitor; YBOCS, Yale-Brown Obsessive-Compulsive Scale.

^a Two-sample *t*-test for continuous variables, χ^2 test for categorical variables.

post-CBT: 16.43 (SD = 6.71), $t = 5.868$, $p < 0.001$].

3.2. Skin conductance results

As reported in [Giménez et al. \(2020\)](#), both patients with OCD and HCs showed successful fear conditioning (i.e., higher response to the CS+ than to the CS- during conditioning) and successful extinction learning (i.e., no differences in response to CS+ and CS- at the end of extinction learning), although there were no between-group differences in neither phase, indicating similar levels of conditioning and extinction between patients with OCD and HCs. During extinction recall, there were no significant CS+E vs. CS+U within-group differences, indicating comparable SCR levels to the extinguished and unextinguished CS, a result similar to [Milad et al. \(2013\)](#). Please see supplementary material for a detailed description of SCR results.

3.3. Neuroimaging results: patients versus controls

3.3.1. Whole-brain analyses

3.3.1.1. Fear conditioning. Within-group analyses showed that during fear conditioning healthy participants showed larger responses to CS+ compared to CS- in the bilateral dorsal anterior cingulate cortex (dACC), the bilateral dorsomedial prefrontal cortex (dmPFC), the right cerebellar cortex, and the bilateral cuneus. Conversely, patients with OCD showed larger responses to CS+ compared to CS- in the bilateral substantia nigra pars compacta extending to the adjacent ventral thalamus and the left primary motor cortex. Both groups also showed significant activations in the bilateral anterior insular cortices ([Fig. 1A](#)).

Between-group comparisons revealed that patients with OCD showed significantly lower activation in the right insulo-opercular region and the dACC during fear conditioning in comparison to HCs. These findings are summarized in [Table 2](#) and [Fig. 1B](#).

3.3.3.2. Fear extinction learning and recall. Neither patients with OCD nor HCs showed significant brain (de)activations during fear extinction learning (CS+ vs. CS-) or fear extinction recall (CS+U vs. CS+E) at the selected significance threshold.

3.3.2. Region of interest analyses

We observed no significant differences in vmPFC (de)activation during fear conditioning, extinction learning, or extinction recall between patients with OCD and HCs with any of the masks used for these comparisons.

3.4. Brain activation and CBT outcome

In our whole-brain multiple regression analyses we observed a significant negative association between right insula activity during fear conditioning ($x = 39$, $y = 12$, $z = -11$; $t = 5.64$; $p < 0.001$; $k = 928$) and CBT outcome (i.e., lower activation in the right insula predicted better CBT outcome). This finding is displayed in [Fig. 2](#). No significant associations were observed between fMRI activity during extinction learning or recall and CBT outcome in any brain region. In ROI analyses, brain activation in the vmPFC across the three experimental phases was not associated with CBT outcome.

3.5. Additional analyses

There are important disparities in the operationalization and analytical strategies used in human fear learning in the literature (see [Lonsdorf, Merz, and Fullana \(2019\)](#) and [Ney et al. \(2018\)](#) for a review). To facilitate the interpretation/comparison of our findings to those of [Milad et al. \(2013\)](#), we repeated our SCR and fMRI analyses by using the same contrasts and trials used by these authors. Therefore, we calculated fear conditioning by contrasting all CS+ trials to all CS- trials, and extinction learning by contrasting the first 8 CS+ + E trials to the last 8 CS+ + E trials (for extinction recall there were no differences between our operationalization and that of [Milad and colleagues](#)). Using these alternative operationalizations, no significant differences in brain activation during fear conditioning or extinction learning were observed between patients with OCD and HCs.

4. Discussion

We evaluated brain activation during fear learning using fMRI and examined whether it could predict CBT outcome in patients with OCD. We found that patients displayed lower brain activation in several brain regions during fear conditioning in comparison to HCs and that activation in one particular brain region, the right insular cortex, was associated with CBT outcome in patients with OCD.

Consistent with previous results in adults ([Apergis-Schoute et al., 2017](#); [Milad et al., 2013](#)) and children ([McGuire et al., 2016](#)) with OCD, our patients with OCD showed intact expression of conditioning at the psychophysiological level. However, they showed significantly less brain activation in the right insulo-opercular region and the dACC during fear conditioning. The anterior insula and the dACC are brain regions robustly activated during fear conditioning in healthy individuals, as shown here and in previous work ([Fullana et al., 2016](#)). These two regions are core components of the “salience network”, and their coactivation is thought to guide behavior in front of emotionally relevant stimuli. Specifically, such coactivation is important for emotional appraisal, with the insulo-opercular region encoding the bodily arousal states (i.e., interoception) ([Craig, 2009](#); [Paulus & Stein, 2006](#)) that contribute to the conscious appraisal of threat underpinned by the dACC ([Harrison et al., 2015](#); [Kalisch & Gerlicher, 2014](#)), which ultimately leads to the regulation and allocation of attentional and cognitive resources ([Menon, 2015](#), pp. 597–611; [Menon & Uddin, 2010](#)). Our data could therefore be reflecting abnormalities in interoception in OCD, which would be consistent with recent neural ([Luigjes et al., 2016](#)) and behavioral ([Schultchen, Zaudig, Krauseneck, Berberich, & Pollatos, 2019](#)) data, highlighting the potential of exploring interoception processes in OCD ([Yoris et al., 2017](#)).

Despite using the same paradigm, very similar sample sizes, obtaining similar psychophysiological results, and conducting very

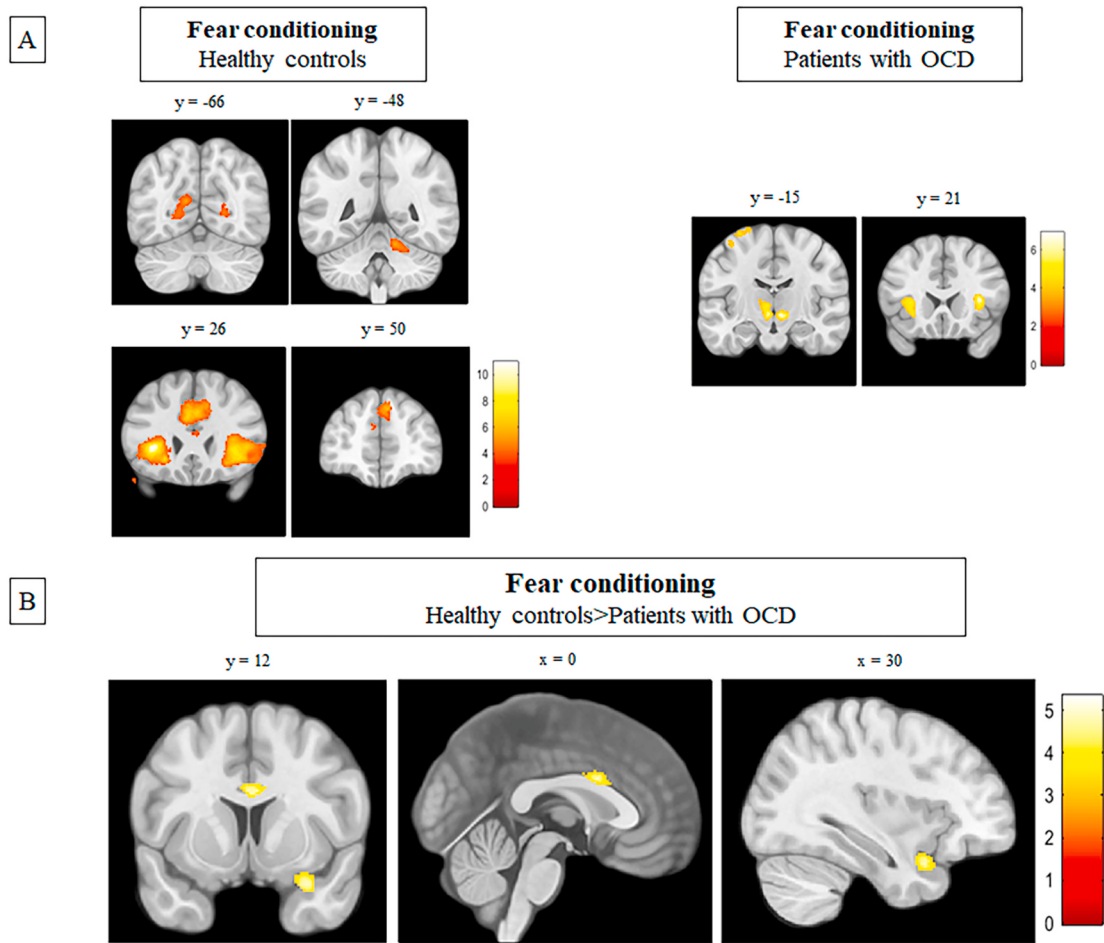


Fig. 1. **A) Left:** Brain activations during fear conditioning (CS+ vs. CS-) in HCs, showing increased activation in the bilateral cuneus, the right cerebellar cortex, the bilateral dorsal anterior cingulate cortex, the bilateral insula, and the bilateral dorsomedial prefrontal cortex, **Right:** Brain activations during fear conditioning (CS+ vs. CS-) in patients with OCD, showing increased activation in the bilateral substantia nigra pars compacta extending to the adjacent ventral thalamus, the left primary motor cortex, and the bilateral insula. **B)** Patients with OCD showed significantly decreased activation in comparison to HCs in the dorsal anterior cingulate cortex and the right insulo-opercular region during fear conditioning. Left hemisphere is depicted on the left. Color bar represents *t*-value. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

Table 2
Brain activation differences between patients with OCD and healthy controls during fear conditioning.

	x	y	z	t value	p value ^a	k	Anatomical location
Fear conditioning	30	12	-24	5.34	0.010	325	Right insulo-opercular cortex
(Healthy controls > Patients with OCD)	0	9	27	4.85	0.028	244	dACC

dACC, dorsal anterior cingulate cortex; k, cluster extent (number of voxels).
x, y, z coordinates are reported in standard Montreal Neurological Institute (MNI) space.

^a FWE corrected for multiple comparisons.

similar analyses, we could not replicate the brain activation results of Milad et al. (2013). These authors found less brain activation in subcortical areas (right caudate, hippocampus, and subgenual cortex) for patients with OCD during conditioning in comparison to HCs. Likewise, we could not either replicate brain activation differences in the neural correlates of fear extinction learning and recall. Of note, our sample was on average somewhat older (40 vs. 33 years), had a higher

age of onset (19 vs. 13 years), was slightly more severe (YBOCS mean = 26 vs. YBOCS mean = 22), and included more medicated participants (89% vs. 50%) than Milad and colleagues' study (2013). Whether some of these variables account for the different results remains unknown.

We could not replicate the results of Apergis-Schoute et al. (2017) either. That study showed increased activation in the vmPFC during conditioning in patients with OCD. Although there is evidence of the involvement of the vmPFC in human fear conditioning from healthy adults (Fullana et al., 2016) and lesion studies (Battaglia, Garofalo, di Pellegrino, & Starita, 2020; Sripada, Garfinkel, & Liberzon, 2013), the exact role of this brain region during conditioning is unknown. Besides, an important difference between Apergis-Schoute's study and ours is the reinforcing rate during conditioning: Apergis-Schoute et al. (2017) used a 33% reinforcing rate, in comparison to the 60% reinforcing rate used in the present study and Milad et al. (2013). Previous research suggests that one of the vmPFC functions is to tackle changing stimulus-outcome contingencies, flexibly updating the value of encountered stimuli based on such changes (Hiser & Koenigs, 2018; Robins et al., 2019). Since a lower reinforcing rate involves "more" updating, the vmPFC could be more easily activated in conditioning paradigms with low reinforcing rates such as those used by Apergis-Schoute et al. (2017), thus explaining our (non-significant) vmPFC results.

Another potential explanation for the lack of replication of differences in the neural correlates of fear learning processes is OCD

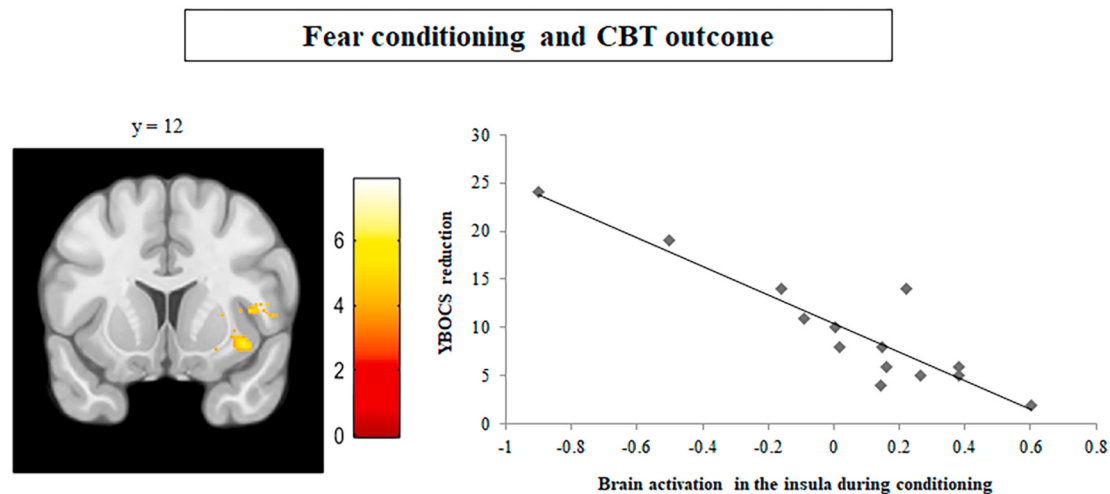


Fig. 2. Association between brain activation in the right insula during fear conditioning and CBT outcome (YBOCS pre-CBT – YBOCS post-CBT) in patients with OCD ($n = 14$). Left hemisphere is depicted on the left. Color bar represents t -value. YBOCS=Yale-Brown Obsessive-Compulsive Scale. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

heterogeneity. Although OCD is classified as a unitary entity, it can be better understood as a compendium of symptom dimensions (Cervin et al., 2021; Mataix-Cols, Rosario-Campos, & Leckman, 2005). These symptom dimensions include contamination/cleaning, obsessions/checking, and symmetry/ordering, which may be associated to different neural correlates (Van den Heuvel et al., 2009). It is possible that fear learning abnormalities characterize only certain OCD subtypes or symptom dimensions and therefore that the investigation of fear learning in OCD is limited by the use of a “categorical” patient-control approach. Future studies are warranted to assess this question.

The differences in brain activation observed here may eventually help nosological classification. Our results suggest that brain activation during conditioning may differentiate OCD from other anxiety-related disorders, for example, those where fear conditioning is robustly associated with increased amygdala activation such as post-traumatic stress disorder (Suarez-Jimenez et al., 2019). The reduced activation during conditioning in the anterior insula, if replicated, could also differentiate OCD from “pure” anxiety disorders such as specific phobia, social anxiety disorder, or panic disorder, where enhanced insula activation has been found (Marin et al., 2017).

In our study, brain activation in the insula during conditioning was associated with CBT outcome in patients with OCD, with less activation predicting a higher symptom reduction. To our knowledge, there are no previous studies investigating brain activation during fear learning as a predictor of CBT outcome in OCD. In a previous study, activation in the insula during symptom provocation was associated with CBT outcome in contamination-based OCD patients (Olatunji et al., 2014). Likewise, in a study in panic disorder patients, insula activation during an emotion regulation task predicted rapid response to CBT (Reinecke, Thilo, Filipini, Croft, & Harmer, 2014). Moreover, previous research suggests that insula activation during threat processing is reduced throughout CBT (Gorka et al., 2019), and the emotional processing theory suggests that enhanced threat processing is a prerequisite for effective CBT in anxiety-related disorders, including OCD (Foa & Kozak, 1986). Insula activation may reflect increased threat processing, although since threat processing/interoception may be altered in OCD (as shown in our patient/control comparison), the directionality of the findings was reversed with respect to other disorders (i.e., *decreased* insula activation was associated to better CBT outcome).

Our study has several limitations. First, our sample size was relatively small, although similar to previous work investigating analogous questions (Milad et al., 2013; Olatunji et al., 2014; Reinecke et al., 2014). Second, almost all patients were on medication and this may

have affected some of the fear learning processes investigated (Fitzgerald, Seemann, & Maren, 2014). Nevertheless, Apergis-Schoute et al. (2017) compared medicated and unmedicated OCD patients and found no differences in SCR or fMRI measures of conditioning. In any case, we included patients who were symptomatic after pharmacological treatment, which is similar to real clinical practice (Koran & Simpson, 2013). Third, we could not properly assess patient/control differences in extinction recall because we did not observe within-group differences in the response to the extinguished vs. unextinguished stimuli (i.e., we lacked assay sensitivity). We must note that there are some important conceptual and methodological challenges involved in the assessment of extinction recall in humans (Lonsdorf, Klingenhöfer-Jens, et al., 2019).

To summarize, our data suggest that OCD patients show abnormal brain activation during fear conditioning and that such altered brain activation can help predict CBT outcome. Future studies should test the ability of the same neural measure used here to differentiate OCD from other anxiety-related disorders, as well as its ability to predict CBT outcome in other disorders for which CBT is the treatment of choice.

CRedit authorship contribution statement

Marta Cano: Conceptualization, Formal analysis, Investigation, Data curation, Writing – original draft, Writing – review & editing, Visualization. **Ignacio Martínez-Zalacaín:** Methodology, Software, Investigation, Data curation, Writing – original draft, Writing – review & editing, Visualization. **Mònica Giménez:** Writing – review & editing. **David Torrents-Rodas:** Formal analysis, Writing – review & editing. **Eva Real:** Investigation, Resources, Data curation, Writing – review & editing. **Pino Alonso:** Investigation, Resources, Writing – review & editing. **Cinto Segalàs:** Resources, Writing – review & editing. **Josep Munuera:** Resources, Writing – review & editing. **José Manuel Menchón:** Resources, Writing – review & editing. **Narcís Cardoner:** Conceptualization, Investigation, Writing – review & editing, Funding acquisition. **Carles Soriano-Mas:** Conceptualization, Resources, Writing – original draft, Writing – review & editing, Supervision, Project administration. **Miquel A. Fullana:** Conceptualization, Resources, Writing – original draft, Writing – review & editing, Supervision, Project administration, Funding acquisition.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence

the work reported in this paper.

Acknowledgments

This work was supported by Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) [PI16/00889, PI16/00144, PI19/01171, PI19/00272], FEDER funds/ European Regional Development Fund -a way to build Europe-, the Departament de Salut, Generalitat de Catalunya (PERIS SLT006/17/249), and the Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca (2017 SGR 1262). MC is funded by a Sara Borrell postdoctoral contract [CD20/00189]. IM-Z is supported by a P-FIS grant [FI17/00294]. We thank CERCA Program/Generalitat de Catalunya for institutional support.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.brat.2021.103927>.

References

- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (5th ed.). Washington, DC: American Psychiatric Association.
- Apergis-Schoute, A. M., Gillan, C. M., Fineberg, N. A., Fernandez-Egea, E., Sahakian, B. J., & Robbins, T. W. (2017). Neural basis of impaired safety signaling in Obsessive Compulsive Disorder. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(12), 3216–3221. <https://doi.org/10.1073/pnas.1609194114>.
- Ball, T. M., Knapp, S. E., Paulus, M. P., & Stein, M. B. (2017). Brain activation during fear extinction predicts exposure success. *Depression and Anxiety*, 34(3), 257–266. <https://doi.org/10.1002/da.22583>.
- Battaglia, S., Garofalo, S., di Pellegrino, G., & Starita, F. (2020). Revaluing the role of vmPFC in the acquisition of pavlovian threat conditioning in humans. *Journal of Neuroscience*, 40(44), 8491–8500. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0304-20.2020>.
- Cervin, M., Miguel, E. C., Güler, A. S., Ferrão, Y. A., Erdoğan, A. B., Lazaro, L., et al. (2021). Towards a definitive symptom structure of obsessive-compulsive disorder: A factor and network analysis of 87 distinct symptoms in 1366 individuals. *Psychological Medicine*, 9, 1–13. <https://doi.org/10.1017/S0033291720005437>.
- Craig, A. D. (2009). How do you feel — now? The anterior insula and human awareness. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(1), 59–70. <https://doi.org/10.1038/nrn2555>.
- Craske, M. G., Hermans, D., & Vervliet, B. (2018). State-of-the-art and future directions for extinction as a translational model for fear and anxiety. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 373(1742), Article 20170025. <https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0025>.
- First, M., Spitzer, R., Gibbon, M., & Williams, J. (1996). *Structured clinical Interview for DSM-IV Axis I disorders-clinician version (SCID-CV)*. Washington, DC: American Psychiatric Press, Inc.
- Fitzgerald, P. J., Seemann, J. R., & Maren, S. (2014). Can fear extinction be enhanced? A review of pharmacological and behavioral findings. *Brain Research Bulletin*, 105, 46–60. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2013.12.007>.
- Foa, E. B., & Kozak, M. J. (1986). Emotional processing of fear: Exposure to corrective information. *Psychological Bulletin*, 99(1), 20–35.
- Fullana, M. A., Albaladejo-Ezquer, A., Soriano-Mas, C., Vervliet, B., Cardoner, N., Benet, O., et al. (2018). Fear extinction in the human brain: A meta-analysis of fMRI studies in healthy participants. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 88, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.03.002>.
- Fullana, M. A., Cardoner, N., Alonso, P., Subirà, M., López-Solà, C., Pujol, J., et al. (2014). Brain regions related to fear extinction in obsessive-compulsive disorder and its relation to exposure therapy outcome: A morphometric study. *Psychological Medicine*, 44(4), 845–856. <https://doi.org/10.1017/S0033291713001128>.
- Fullana, M. A., Harrison, B. J., Soriano-Mas, C., Vervliet, B., Cardoner, N., Ávila-Parcet, A., et al. (2016). Neural signatures of human fear conditioning: An updated and extended meta-analysis of fMRI studies. *Molecular Psychiatry*, 21(4), 500–508. <https://doi.org/10.1038/mp.2015.88>.
- Fullana, M. A., Zhu, X., Alonso, P., Cardoner, N., Real, E., López-Solà, C., et al. (2017). Basolateral amygdala-ventromedial prefrontal cortex connectivity predicts cognitive behavioural therapy outcome in adults with obsessive-compulsive disorder. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 42(6), 378–385. <https://doi.org/10.1503/jpn.160215>.
- Furini, C., Myskiw, J., & Izquierdo, I. (2014). The learning of fear extinction. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 47, 670–683. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.10.016>.
- Giménez, M., Cano, M., Martínez-Zalacáín, I., Real, E., Alonso, P., Segalàs, C., et al. (2020). Is glutamate associated with fear extinction and cognitive behavior therapy outcome in OCD? A pilot study. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 270(8), 1003–1014. <https://doi.org/10.1007/s00406-019-01056-3>.
- Goodman, W. K., Price, L. H., Rasmussen, S. A., Mazure, C., Fleischmann, R. L., Hill, C. L., et al. (1989). The Yale-Brown obsessive compulsive Scale. *Archives of General Psychiatry*, 46(11), 1006–1011. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1989.01810110048007>.
- Gorka, S. M., Young, C. B., Klumpp, H., Kennedy, A. E., Francis, J., Ajilore, O., et al. (2019). Emotion-based brain mechanisms and predictors for SSRI and CBT treatment of anxiety and depression: A randomized trial. *Neuropsychopharmacology*, 44(9), 1639–1648. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0407-7>.
- Harrison, B. J., Fullana, M. A., Soriano-Mas, C., Via, E., Pujol, J., Martínez-Zalacáín, I., et al. (2015). A neural mediator of human anxiety sensitivity. *Human Brain Mapping*, 36(10), 3950–3958. <https://doi.org/10.1002/hbm.22889>.
- Hiser, J., & Koenigs, M. (2018). The multifaceted role of the ventromedial prefrontal cortex in emotion, decision making, social cognition, and psychopathology. *Biological Psychiatry*, 83(8), 638–647. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.10.030>.
- Kalisch, R., & Gerlicher, A. M. V. (2014). Making a mountain out of a molehill: On the role of the rostral dorsal anterior cingulate and dorsomedial prefrontal cortex in conscious threat appraisal, catastrophizing, and worrying. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 42, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.02.002>.
- Koran, L. M., & Simpson, H. B. (2013, March). *Guideline watch (March 2013): Practice guideline for the treatment of patients with obsessive-compulsive disorder*. Retrieved from https://psychiatryonline.org/pb/assets/raw/sitewide/practice_guidelines/guideline_s/ocd-watch.pdf.
- Kozak, M. J., & Foa, E. B. (1997). *Mastery of your obsessive-compulsive disorder*. San Antonio, TX: Psychological Corp.
- Lonsdorf, T. B., Klingelhoefer-Jens, M., Andreatta, M., Beckers, T., Chalkia, A., Gerlicher, A., et al. (2019). Navigating the garden of forking paths for data exclusions in fear conditioning research. *ELife*, 8, Article e52465. <https://doi.org/10.7554/eLife.52465>.
- Lonsdorf, T. B., Merz, C. J., & Fullana, M. A. (2019). Fear extinction retention: Is it what we think it is? *Biological Psychiatry*, 85(12), 1074–1082. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.02.011>.
- Luigjes, J., Figeo, M., Tobler, P. N., van den Brink, W., de Kwaasteniet, B., van Wingen, G., et al. (2016). Doubt in the insula: Risk processing in obsessive-compulsive disorder. *Frontiers in Human Neuroscience*, 10, 283. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00283>.
- Maldjian, J. A., Laurienti, P. J., Kraft, R. A., & Burdette, J. H. (2003). An automated method for neuroanatomic and cytoarchitectonic atlas-based interrogation of fMRI data sets. *NeuroImage*, 19(3), 1233–1239. [https://doi.org/10.1016/S1053-8119\(03\)00169-1](https://doi.org/10.1016/S1053-8119(03)00169-1).
- Marin, M. F., Zsido, R. G., Song, H., Lasko, N. B., Killgore, W. D. S., Rauch, S. L., et al. (2017). Skin conductance responses and neural activations during fear conditioning and extinction recall across anxiety disorders. *JAMA Psychiatry*, 74(6), 622–631. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2017.0329>.
- Mataix-Cols, D., Rosario-Campos, M. C., & Leckman, J. F. (2005). A multidimensional model of obsessive-compulsive disorder. *American Journal of Psychiatry*, 162(2), 228–238. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.162.2.228>.
- McGuire, J. F., Orr, S. P., Wu, M. S., Lewin, A. B., Small, B. J., Phares, V., et al. (2016). Fear conditioning and extinction in youth with obsessive compulsive disorder. *Depression and Anxiety*, 33(3), 229–237. <https://doi.org/10.1002/da.22468>.
- Menon, V. (2015). Saliency network. In A. W. Toga (Ed.), *Brain mapping: An encyclopedic reference*. Academic Press: Elsevier.
- Menon, V., & Uddin, L. Q. (2010). Saliency, switching, attention and control: A network model of insula function. *Brain Structure and Function*, 214(5–6), 655–667. <https://doi.org/10.1007/s00429-010-0262-0>.
- Menzies, L., Chamberlain, S. R., Laird, A. R., Thelen, S. M., Sahakian, B. J., & Bullmore, E. T. (2008). Integrating evidence from neuroimaging and neuropsychological studies of obsessive-compulsive disorder: The orbitofronto-striatal model revisited. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32(3), 525–549. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.09.005>.
- Milad, M. R., Furtak, S. C., Greenberg, J. L., Keshaviah, A., Im, J. J., Falkenstein, M. J., et al. (2013). Deficits in conditioned fear extinction in obsessive-compulsive disorder and neurobiological changes in the fear circuit. *JAMA Psychiatry*, 70(6), 608–618. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.914>.
- Milad, M. R., Orr, S. P., Pitman, R. K., & Rauch, S. L. (2005). Context modulation of memory for fear extinction in humans. *Psychophysiology*, 42(4), 456–464. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2005.00302.x>.
- Milad, M. R., & Rauch, S. L. (2012). Obsessive-compulsive disorder: Beyond segregated cortico-striatal pathways. *Trends in Cognitive Sciences*, 16(1), 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2011.11.003>.
- Milad, M. R., Rosenbaum, B. L., & Simon, N. M. (2014). Neuroscience of fear extinction: Implications for assessment and treatment of fear-based and anxiety related disorders. *Behaviour Research and Therapy*, 62, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.brat.2014.08.006>.
- Milad, M. R., Wright, C. I., Orr, S. P., Pitman, R. K., Quirk, G. J., & Rauch, S. L. (2007). Recall of fear extinction in humans activates the ventromedial prefrontal cortex and hippocampus in concert. *Biological Psychiatry*, 62(5), 446–454. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.10.011>.
- Myers, K. M., & Davis, M. (2002). Behavioral and neural analysis of extinction. *Neuron*, 36(4), 567–584. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)01064-4](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)01064-4).
- Ney, L. J., Wade, M., Reynolds, A., Zuj, D. V., Dymond, S., Matthews, A., et al. (2018). Critical evaluation of current data analysis strategies for psychophysiological measures of fear conditioning and extinction in humans. *International Journal of Psychophysiology*, 134, 95–107. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2018.10.010>.
- Olatunji, B. O., Ferreira-Garcia, R., Caseras, X., Fullana, M. A., Wooderson, S., Speckens, A., et al. (2014). Predicting response to cognitive behavioral therapy in contamination-based obsessive-compulsive disorder from functional magnetic resonance imaging. *Psychological Medicine*, 44(10), 2125–2137. <https://doi.org/10.1017/S0033291713002766>.

- Paulus, M. P., & Stein, M. B. (2006). An insular view of anxiety. *Biological Psychiatry*, 60 (4), 383–387. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.03.042>.
- Pittig, A., van den Berg, L., & Vervliet, B. (2016). The key role of extinction learning in anxiety disorders. *Current Opinion in Psychiatry*, 29(1), 39–47. <https://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000220>.
- Reinecke, A., Thilo, K., Filippini, N., Croft, A., & Harmer, C. J. (2014). Predicting rapid response to cognitive-behavioural treatment for panic disorder: The role of hippocampus, insula, and dorsolateral prefrontal cortex. *Behaviour Research and Therapy*, 62, 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.brat.2014.07.017>.
- Robbins, T. W., Vaghi, M. M., & Banca, P. (2019). Obsessive-compulsive disorder: Puzzles and prospects. *Neuron*, 102(1), 27–47. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.01.046>.
- Schultchen, D., Zaudig, M., Krauseneck, T., Berberich, G., & Pollatos, O. (2019). Interoceptive deficits in patients with obsessive-compulsive disorder in the time course of cognitive-behavioral therapy. *PloS One*, 14(5), Article e0217237. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217237>.
- Sheehan, D. V., Lecrubier, Y., Sheehan, K. H., Amorim, P., Janavs, J., Weiller, E., et al. (1998). The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): The development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *Journal of Clinical Psychiatry*, 59(20), 22–33. [https://doi.org/10.1016/S0924-9338\(99\)80239-9](https://doi.org/10.1016/S0924-9338(99)80239-9).
- Sripada, R. K., Garfinkel, S. N., & Liberzon, I. (2013). Avoidant symptoms in PTSD predict fear circuit activation during multimodal fear extinction. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7(21). <https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00672>, 0–1.
- Suarez-Jimenez, B., Albajes-Eizaguirre, A., Lazarov, A., Zhu, X., Harrison, B. J., Radua, J., et al. (2019). Neural signatures of conditioning, extinction learning, and extinction recall in posttraumatic stress disorder: A meta-analysis of functional magnetic resonance imaging studies. *Psychological Medicine*, 50(9), 1442–1451. <https://doi.org/10.1017/S0033291719001387>.
- Van den Heuvel, O. A., Remijnse, P. L., Mataix-Cols, D., Vrenken, H., Groenewegen, H. J., Uylings, H. B., et al. (2009). The major symptom dimensions of obsessive-compulsive disorder are mediated by partially distinct neural systems. *Brain*, 132(Pt 4), 853–868. <https://doi.org/10.1093/brain/awn267>.
- Van den Heuvel, O. A., van Wingen, G., Soriano-Mas, C., Alonso, P., Chamberlain, S. R., Nakamae, T., et al. (2016). Brain circuitry of compulsivity. *European Neuropsychopharmacology*, 26(5), 810–827. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.12.005>.
- Yoris, A., García, A. M., Traiber, L., Santamaría-García, H., Martorell, M., Alifano, F., et al. (2017). The inner world of overactive monitoring: Neural markers of interoception in obsessive-compulsive disorder. *Psychological Medicine*, 47(11), 1957–1970. <https://doi.org/10.1017/S0033291717000368>.

5. Discusión

En este apartado se presenta una discusión general integrando todos aquellos resultados que exhiben una línea argumentativa común en la evaluación de la relación del condicionamiento del miedo con el TOC y la TCC. Posteriormente, se describen las limitaciones con las que se han encontrado los estudios incluidos en la presente tesis y cómo éstas se podrían manejar en estudios futuros.

5.1 Discusión global

La presente tesis ha constituido un reto metodológico al incorporar MRS, fMRI y EDA durante un paradigma completo de condicionamiento aversivo en una misma muestra de pacientes con TOC. Además, no sólo los pacientes con TOC debían acudir dos días correlativos al centro de resonancia magnética para desarrollar todo el protocolo de condicionamiento aversivo, sino que permanecieron dentro del estudio hasta la finalización de la TCC. Esta aproximación ha permitido evaluar por primera vez los correlatos neurometabólicos, las respuestas neurofuncionales y psicofisiológicas asociadas al condicionamiento aversivo, así como la asociación de todas estas variables neurobiológicas y psicofisiológicas con la respuesta a la TCC.

Cabe destacar que esta tesis ha sido la primera en plantear un estudio que evalúa la asociación entre los niveles de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial y la respuesta electrodermal durante las diferentes fases de la extinción del miedo (es decir, el aprendizaje de la extinción y el recuerdo de la extinción) en paralelo a la respuesta clínica a la TCC en pacientes con TOC. Por tanto, la relevancia de este estudio no reside exclusivamente en la perspectiva clínica del mismo, sino en su aproximación metodológica multimodal que permite demostrar, por primera vez, la asociación de los niveles de glutamato cerebrales y la extinción del miedo en humanos. Dado que diferentes estudios preclínicos han postulado que el fenómeno de la extinción del miedo se encuentra modulado por los niveles de glutamato cerebrales (91,92) y teniendo en cuenta que la extinción del miedo es uno de los pilares psicológicos subyacentes a la TCC (98,99), los estudios previos en humanos han podido fácilmente asumir que los niveles de glutamato se asocian con la respuesta a la TCC debido a la relación de los niveles de glutamato con

la extinción del miedo previamente establecida en modelos animales. Sin embargo, los estudios previos en humanos no han llegado a combinar las metodologías multimodales requeridas (es decir, MRS y EDA durante la realización de un paradigma de condicionamiento aversivo) para establecer una base experimental real de la relación entre la concentración de glutamato cerebral y la extinción del miedo en humanos. Por tanto, el presente estudio intenta indagar en las brechas existentes en torno a los procesos psicológicos subyacentes a la terapia cognitivo-conductual a la vez que identifica biomarcadores predictores de respuesta a la TCC en una muestra de pacientes con TOC.

En línea con esta idea, los hallazgos de este trabajo no tan sólo demuestran que los niveles de glutamato en la CPFvm se asocian positivamente con la respuesta a la TCC, sino que también se relacionan negativamente con el recuerdo de la extinción del miedo (pero no con el aprendizaje de la extinción). Una de las primeras ideas a destacar sería que efectivamente los niveles de glutamato se presentan como al menos un biomarcador descriptivo parcial del fenómeno psicológico subyacente a la TCC. Sin embargo, la dirección de la relación entre los niveles de glutamato y el recuerdo de la extinción del miedo aparentemente parece no ser congruente con los hallazgos de los estudios preclínicos. Diferentes estudios en modelos animales sugieren que procesos biológicos sumamente necesarios para el aprendizaje y la memoria, como la plasticidad neuronal, requieren de la activación de receptores de glutamato NMDA y, más específicamente, que la activación de receptores glutamatérgicos en la corteza infralímbica (o la CPFvm en humanos) es condición necesaria para la consolidación de la extinción del miedo (70,72,74).

No obstante, los resultados de la presente investigación indican que niveles altos de glutamato en la CPFvm se asocian con una disminución del recuerdo de la extinción del miedo en los pacientes con TOC. La interpretación lógica inicial se podría basar en que el proceso de recuerdo de la extinción del miedo sigue una forma de U invertida en su relación con los niveles de glutamato. Por tanto, niveles excesivos de glutamato podrían llevar a entorpecer la modulación biológica de este metabolito en los procesos de condicionamiento aversivo. Esta interpretación podría llegar a ser congruente con la muestra de estudio, pacientes con TOC que se caracterizan por alteraciones psicológicas y neurobiológicas que podrían basarse en el condicionamiento aversivo (89). Esta hipótesis, sin embargo, no resulta respaldada por los hallazgos obtenidos en los análisis

que comparan el recuerdo de la extinción del miedo y los niveles de glutamato entre pacientes y controles sanos en los que no se observa que exista una alteración patológica evidente en los pacientes con TOC. De hecho, estudios previos evaluando los niveles de glutamato en la corteza prefrontal orbitofrontal y la corteza prefrontal medial de pacientes con TOC tampoco han observado diferencias significativas con una muestra de controles sanos (117,118).

Además, los resultados del presente estudio no indican que exista una asociación significativa entre los niveles de glutamato en la CPFvm y la severidad de la sintomatología de los pacientes con TOC. Por tanto, esta no parece ser la explicación de la discrepancia en la dirección de los resultados de este estudio y los estudios preclínicos previos. Otro aspecto importante a tener en cuenta es que, aunque los modelos animales y los paradigmas en humanos compartan una línea fenomenológica básica, no sería incoherente pensar que el condicionamiento clásico en humanos se caracteriza por procesos de orden superior y, por tanto, procesos más complejos que requieren de una interacción entre diferentes factores biológicos más allá de los niveles de glutamato e incluso que se caractericen por una interrelación entre diferentes regiones cerebrales más allá de la CPFvm. Esta idea se hace más evidente si tenemos en cuenta que el aprendizaje de la extinción no parece estar relacionado con los niveles de glutamato en la CPFvm y, por tanto, es posible que tanto la extinción como el recuerdo de la extinción estén mediados por otros factores biológicos y/u otras regiones cerebrales.

Independientemente de las ideas expuestas en los párrafos anteriores, el estudio de la relación de los niveles de glutamato con la respuesta a la TCC no deja de ser relevante en la identificación de biomarcadores predictores de respuesta al tratamiento en los trastornos de ansiedad. En este sentido, no se debe olvidar que los niveles de glutamato en la CPFvm se asociaron positivamente con la respuesta a la TCC en los pacientes con TOC. En consecuencia, los resultados del presente estudio confirman el rol de la concentración de glutamato cerebral como un posible biomarcador de predicción de respuesta a la TCC en el TOC, como ya había sido sugerido anteriormente por O'Neill et al. (114,115) y con posterioridad por Ivarsson et al. (116). En muestras pediátricas/adolescentes de pacientes con TOC, O'Neill et al. (114,115) e Ivarsson et al. (116) han observado una asociación negativa entre los niveles de glutamato en el tálamo, la corteza cingulada posterior ventral y la corteza cingulada media y la respuesta a la

TCC, en contraste con la relación positiva que se observó en la CPFvm en este estudio. El estudio de los niveles de glutamato en diferentes regiones cerebrales, cómo se ha indicado en el párrafo anterior, puede ser uno de los principales motivos que esté explicando la nueva contraposición en la dirección de los resultados de este estudio. Asimismo, se debe tener en cuenta que las muestras de estudio de O'Neill et al. (114,115) e Ivarsson et al. (116) se encuentran en un rango de edad de 7 a 17 años, mientras que la muestra de adultos de nuestro estudio tiene una media de edad de 40 años. En este sentido, los niveles de glutamato de la corteza prefrontal en los pacientes con TOC pueden estar interaccionando con el desarrollo cerebral o la historia de la enfermedad. Es decir, puede ser congruente observar niveles reducidos de glutamato durante la infancia y “normales” (recordando la no diferenciación entre pacientes y controles) durante la edad adulta, aunque en todas las edades sigan asociándose con la respuesta a la TCC.

Hasta este punto se ha hecho una discusión de la posible interpretación de la relación negativa entre los niveles de glutamato en la CPFvm y el recuerdo de la extinción del miedo y la asociación positiva entre los niveles de glutamato y la respuesta a la TCC de manera independiente. No obstante, el valor científico, metodológico y clínico más relevante es, sin duda, la lectura de la interrelación entre estas tres variables. En este sentido, estudios previos han demostrado que el mayor recuerdo de la extinción del miedo se asocia con una mejor respuesta a la TCC al menos en pacientes con trastorno de ansiedad social (119). Por tanto, parece inicialmente contradictorio que niveles altos de glutamato se asocien a la vez con menor recuerdo de la extinción del miedo y mayor respuesta a la TCC. Sin embargo, no sería tan descabellado pensar que los pacientes con mayores niveles de glutamato en la CPFvm puedan mostrar un recuerdo de la extinción del miedo reducido y, al mismo tiempo, estos pacientes sean los que más se benefician de la TCC, la cual tiene como objetivo principal mejorar este recuerdo de la extinción del miedo “deficiente”.

Parece que efectivamente la concentración de glutamato cerebral es esencial para los procesos de condicionamiento del miedo, aunque aún nada se ha discutido en relación a cómo las diferentes regiones cerebrales asociadas a dicho fenómeno psicológico interactúan en los pacientes con TOC. Recientes modelos neurobiológicos del TOC han sugerido que los procesos de condicionamiento aversivo pueden estar jugando un papel relevante en la etiología del TOC (88). Sin embargo, tan sólo un estudio previo ha

evaluado los correlatos neurobiológicos del TOC durante un paradigma completo de condicionamiento aversivo (es decir, condicionamiento del miedo, aprendizaje de la extinción del miedo y el recuerdo de la extinción del miedo) mediante resonancia magnética funcional (89). Si bien es cierto que Apergis-Schoute et al. (90) investigaron la activación cerebral durante la fase del condicionamiento del miedo, no llegaron a examinar la respuesta neural durante las fases de extinción del miedo, lo cual les hubiera requerido triplicar el tiempo de experimentación. Por tanto, el presente estudio también se conceptualizó con el objetivo de incrementar la evidencia existente en torno a la relevancia de la red neuronal del condicionamiento aversivo en el TOC. Además, a pesar de la indudable relación de los procesos del condicionamiento aversivo con la TCC, ningún estudio previo había evaluado el potencial poder predictivo de la actividad cerebral durante un paradigma de condicionamiento aversivo en la respuesta a la TCC en pacientes con TOC. Con todo ello, este es el primer estudio en investigar los correlatos neurobiológicos del TOC durante un paradigma completo de condicionamiento aversivo mediante resonancia magnética funcional a la vez que intenta asociar la activación cerebral derivada de dicho aprendizaje del miedo con la respuesta a la TCC.

Específicamente, los análisis realizados durante este estudio revelaron que los pacientes con TOC muestran una menor activación en la ínsula y la CCAd durante la fase de condicionamiento del miedo en comparación con los controles sanos, y que dicha menor activación de la ínsula se asocia con la respuesta a la TCC. La ínsula y la CCAd han demostrado exhibir una relación funcional única durante el condicionamiento del miedo en controles sanos (64). Como nodos principales de la red de saliencia (“salience network” en inglés), su coactivación es relevante en los procesos relacionados con la valoración emocional y la interocepción y, por tanto, pueden llegar a ser capaces de guiar el comportamiento delante de estímulos amenazantes (120,121). Aunque el papel de la ínsula y la corteza cingulada anterior en el condicionamiento del miedo parece ser consistente, esta es la primera evidencia que demuestra su implicación en el TOC. Ninguno de los dos estudios previos había revelado diferencias significativas en la coactivación de estas regiones entre pacientes con TOC y controles sanos (90,99). No hay duda que factores como una menor severidad de la sintomatología (Cano & Martínez-Zalacáin et al. = 26 vs. Milad et al. = 22 vs. Apergis-Schoute et al. = 22) (89,90,122) y la inclusión de menos pacientes con medicación (Cano & Martínez-Zalacáin et al. = 89%

vs. Milad et al. = 50% vs. Aspergis-Schoute et al. = 63%) (89,90,122) podría explicar la ausencia de esta alteración en estudios previos.

Sin embargo, desde un punto de vista metodológico, el enfoque analítico que caracteriza el presente trabajo, el cual se focaliza en los primeros ensayos del estímulo condicionado, cuando las respuestas cerebrales al condicionamiento del miedo deberían ser máximas, podría llegar a ser más sensible en la identificación de patrones diferenciales entre pacientes y controles. Otro aspecto metodológico a tener en cuenta es el número de ensayos reforzados durante el condicionamiento del miedo (es decir, el número de ensayos en los que el estímulo condicionado iba seguido del estímulo incondicionado). Aspergis-Schoute et al. (90) utilizó un 33% de tasa de refuerzo, en comparación al 60% de tasa de refuerzo que se usó en el presente estudio y en Milad et al. (89). Si bien esta diferencia metodológica no explicaría porqué los estudios previos no parecen detectar la activación de la ínsula y la CCAd durante el condicionamiento del miedo como alteraciones características del TOC, nos permite señalar cómo la más mínima diferencia metodológica puede conllevar obtener resultados completamente diferentes. En este sentido, Aspergis-Schoute et al. (90) observaron un incremento de la actividad de la CPFvm durante el condicionamiento del miedo en pacientes con TOC en comparación con controles sanos. En contraste, Milad et al. (89) mostraron una disminución de la actividad de la CPFvm y el presente estudio ni siquiera exhibió diferencias entre grupos en la actividad de la CPFvm. Evidencia reciente sugiere que la CPFvm intenta regular los cambios en las contingencias estímulo-resultado actualizando de forma flexible el valor de los estímulos en función de tales cambios (123,124). Dado que una menor tasa de refuerzo implica una mayor actualización, la CPFvm podría activarse más fácilmente en paradigmas de condicionamiento del miedo con una tasa baja de refuerzo como la utilizada en Aspergis-Schoute et al. (90).

Un elemento que sí parece ser consistente en diversos estudios (89,90,95,122,125) es que los pacientes con TOC muestran una expresión inalterada del condicionamiento del miedo a nivel psicofisiológico (mediante respuesta electrodermal). Integrando este resultado a los hallazgos de actividad neuronal del presente estudio (menor actividad de la ínsula y la CCAd), una posible interpretación sería que aun presentando un nivel de excitación o respuesta corporal “normal” frente a estímulos amenazantes, los pacientes con TOC podrían estar mostrando una alteración en la codificación y valoración

consciente de su respuesta. Esta alteración estaría limitando la reconducción de la conducta y, consecuentemente, podría llegar a exacerbar la sintomatología ansiosa. Estos hallazgos respaldan resultados neurales y conductuales recientes (126,127) que destacan el potencial de explorar los procesos de interocepción en los pacientes con TOC. En cualquier caso, la actividad disminuida de la ínsula y la CCAd durante el condicionamiento del miedo, en caso que el resultado sea replicado, constituiría un biomarcador diagnóstico del TOC. Y, es más, podría utilizarse como biomarcador de diagnóstico diferencial de otros trastornos de ansiedad en los que se ha encontrado una activación incrementada de la ínsula (128).

Volviendo a uno de los objetivos centrales y novedosos del estudio, se debe enfatizar que una menor actividad de la ínsula durante el condicionamiento del miedo también podría representar un biomarcador predictor de respuesta a la TCC al menos en pacientes con TOC. Estudios previos han sugerido que la actividad de la ínsula durante el procesamiento de una amenaza se reduce durante la TCC (129), y la teoría del procesamiento emocional destaca que un procesamiento de la amenaza intensificado es un prerrequisito para una TCC efectiva (104), resultados aparentemente contrapuestos a los hallazgos del presente estudio. No hay duda de que una respuesta corporal acentuada ante una posible amenaza implica un incremento en la actividad de la ínsula que permite interpretar y regular la conducta y, por tanto, la actividad de la ínsula puede estar reflejando un procesamiento de la amenaza incrementado. Sin embargo, debido a que los procesos de interocepción en el procesamiento de la amenaza pueden estar alterados en los pacientes con TOC (supuesto derivado de la comparación pacientes vs. controles del presente estudio), sería posible que la direccionalidad de los resultados se invierta respecto a otros trastornos de ansiedad. Sea como fuere, este estudio ha demostrado la relevancia de la respuesta de la ínsula durante el condicionamiento del miedo en la predicción de la respuesta a la TCC.

En conclusión, e integrando todos los resultados de ambos estudios, los pacientes con TOC no muestran una alteración en la concentración de glutamato en la CPFvm, pero exhiben menor actividad en la ínsula y la CCAd durante la fase del condicionamiento del miedo. Sin embargo, los niveles de glutamato en la CPFvm sí se asocian negativamente con el recuerdo de la extinción del miedo y positivamente con la respuesta a la TCC. Asimismo, la actividad de la ínsula durante el condicionamiento del miedo se relaciona

negativamente con la respuesta a la TCC (Figura 9). Por tanto, la corteza prefrontal ventromedial en los paradigmas de condicionamiento aversivo y en su relación con la etiología y respuesta al tratamiento de los pacientes con TOC no parece estar jugando su papel “en solitario”. Aunque existe evidencia de la participación de la CPFvm en los procesos de condicionamiento aversivo en humanos (19,64), y la investigación reciente ha priorizado destacar su papel en relación al aprendizaje del miedo, es evidente que, al menos en el TOC y la respuesta a TCC, la CPFvm necesita interaccionar con otras regiones cerebrales (como la ínsula) para codificar procesos psicológicos complejos como el condicionamiento aversivo. Esta no sería una idea propia reciente, sino que tras años de investigación en salud mental se ha manifestado una y otra vez que los trastornos mentales se caracterizan por una alteración compleja de redes neuronales más que por una anormalidad en una región cerebral específica (130).

Además, aunque la TCC ha sido usualmente conceptualizada como esencialmente un entrenamiento de la extinción (131), los resultados de la presente tesis sugieren que la fase de condicionamiento del miedo también podría estar jugando un papel principal en la respuesta a TCC en el TOC. De hecho, todas las fases del condicionamiento aversivo están altamente relacionadas y, por tanto, sería posible que todas sus fases estén de cierta manera impactando en la respuesta a la TCC. En relación con la respuesta a la TCC, se debe destacar que la presente tesis ha mostrado que la TCC conduce a una reducción significativa de la severidad de la sintomatología obsesiva compulsiva en pacientes con TOC. En este sentido, la presente tesis confirma que TCC es un tratamiento eficaz para aquellos pacientes que sufren de TOC.

■ ■ TRASTORNO OBSESIVO-COMPULSIVO

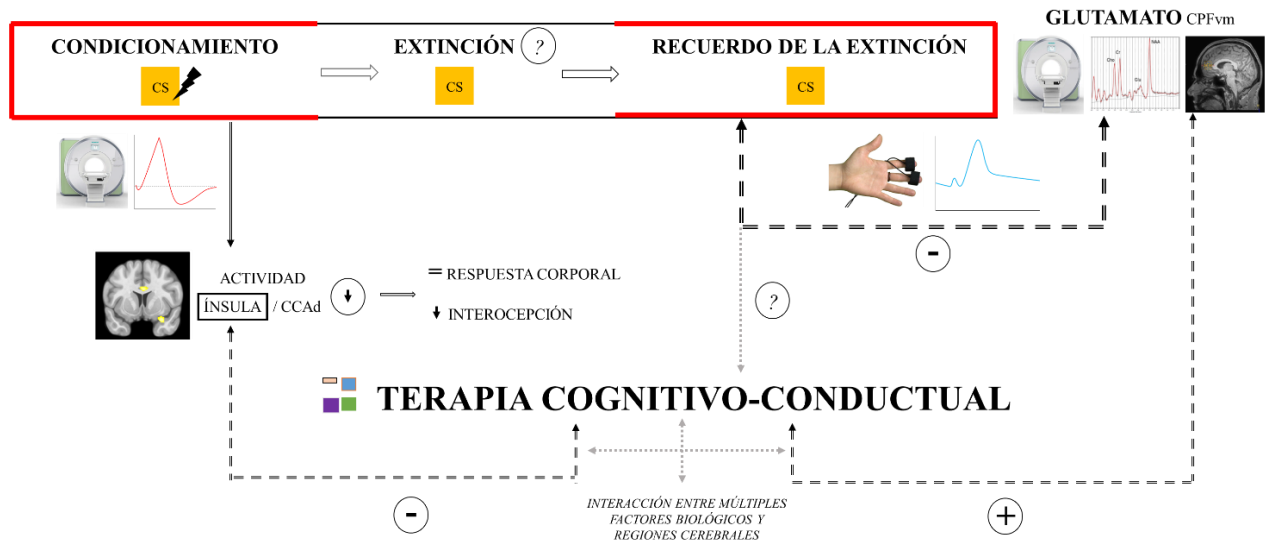


Figura 9. Ilustración sobre el impacto del condicionamiento aversivo y la concentración de glutamato cerebral en la sintomatología obsesiva compulsiva y la respuesta a la terapia cognitivo-conductual. El condicionamiento aversivo se entiende como un proceso en el que todas las fases son imprescindibles, aunque el condicionamiento del miedo y el recuerdo de la extinción del miedo jueguen un papel más evidente en el trastorno obsesivo compulsivo y la respuesta a la terapia cognitivo-conductual. Durante el condicionamiento del miedo, medido a través de resonancia magnética funcional, los pacientes con trastorno obsesivo compulsivo exhiben una menor actividad de la ínsula y la corteza cingulada anterior dorsal (CCAAd). Aunque la respuesta corporal a los estímulos condicionados (CS) aversivos no se vea alterada, la menor actividad de la ínsula sugiere que los pacientes con trastorno obsesivo compulsivo pueden mostrar una alteración en los procesos de interocepción. El recuerdo de la extinción del miedo, medido a través de actividad electrodermal, se asocia negativamente con la concentración de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial (CPFvm) en los pacientes con trastorno obsesivo compulsivo. Esta relación es de máxima importancia ya que se demuestra por primera vez en humanos la relación entre la concentración de glutamato cerebral y el condicionamiento aversivo. Tanto la menor actividad de la ínsula durante el condicionamiento del miedo como los niveles altos de glutamato en la CPFvm se asocian con una mejor respuesta a la terapia cognitivo-conductual. La conjunción de ambas relaciones permite hipotetizar que una interacción entre múltiples factores biológicos y regiones cerebrales es lo que puede explicar la respuesta a la terapia cognitivo-conductual en el trastorno obsesivo compulsivo. Paralelamente, la relación entre el recuerdo de la extinción del miedo y la concentración de glutamato, y entre la concentración del glutamato y la respuesta a la terapia cognitivo-conductual parece apuntar a que la concentración de glutamato y la respuesta a la terapia cognitivo-conductual se pueden llegar a relacionar de manera indirecta a través del recuerdo de la extinción del miedo.

5.2 Limitaciones y perspectivas de futuro

En primer lugar, dado el pequeño número de pacientes incluidos, los resultados de la presente tesis deben considerarse preliminares, aunque el tamaño de la muestra es similar al utilizado en estudios previos investigando el mismo fenómeno (89). Por este motivo, la realización de una replicación con una muestra más grande sería de especial interés. En segundo lugar, no se puede determinar qué efecto, si lo hubo, tuvo el

tratamiento farmacológico simultáneo en los resultados incluidos en la presente tesis. Si bien es cierto que la medicación puede afectar a los procesos de condicionamiento del miedo Fitzgerald et al. (132) y Aspergis-Schoute et al. (90) compararon pacientes con TOC medicados y no medicados y no encontraron diferencias significativas en las medidas psicofisiológicas o de fMRI del condicionamiento del miedo. En la replicación propuesta, además de incluir pacientes con TOC bajo un tratamiento con TCC, podría incluir pacientes con TOC tratados con una estrategia farmacológica convencional con el objetivo de determinar biomarcadores comunes y diferenciales de cada una de estas estrategias terapéuticas. En cualquier caso, la muestra de pacientes incluida en los análisis de la presente tesis se encontraba sintomática después del tratamiento farmacológico, lo cual es similar a la práctica clínica real (133).

Por otra parte, la nueva revisión minuciosa de los estudios para realizar la presente tesis me ha permitido detectar dos posibles flaquezas metodológicas. Des de un punto de vista analítico, los análisis de la presente tesis no han permitido responder a la pregunta de si las respuestas psicofisiológicas durante el condicionamiento aversivo se relacionan con la respuesta a la TCC. De haber sido así, incluso se podría haber evaluado un modelo de mediación en el que la relación entre los niveles de glutamato en la CPFvm y la respuesta a la TCC estuviera mediada por las respuestas psicofisiológicas observadas durante el recuerdo de la extinción del miedo. Al mismo tiempo, la secuencia de MRS empleada no puede directamente asociarse al paradigma del condicionamiento aversivo, motivo por el cual no se puede concluir de manera robusta que los niveles de glutamato en la corteza prefrontal ventromedial estén relacionados al aprendizaje del miedo y la extinción. El uso de MRS funcional, relacionada con una tarea hubiera sido el último escalón para una auténtica combinación de metodologías en el estudio del condicionamiento aversivo (134).

Sea como fuere, los resultados de la presente tesis representan un avance en la comprensión de los correlatos neurobiológicos del TOC y uno de sus tratamientos más eficaces. De manera importante, estudios futuros podrán utilizar estos resultados como base para el diseño y la conceptualización de otros experimentos que nos acerquen aún más a alcanzar el conocimiento suficiente para mejorar la sintomatología y la calidad de vida de los pacientes con TOC.

6. Conclusions

1. Fear learning and fear extinction recall are essential psychological phenomena to understand the etiology of obsessive-compulsive disorder and the cognitive-behavioral outcome.
2. Glutamate levels in the ventromedial prefrontal cortex are associated with fear extinction recall in patients with obsessive-compulsive disorder.
3. Abnormal insula and dorsal anterior cingulate cortex activations during fear learning appear to reflect alterations in interoception in patients with obsessive-compulsive disorder.
4. A complex interaction between multiple biological factors and brain regions may be needed to explain cognitive-behavioral therapy outcome.
 - 4.1. Glutamate levels in the ventromedial prefrontal cortex can help predict cognitive-behavioral therapy response in patients with obsessive-compulsive disorder.
 - 4.2. Altered insula activations during fear learning may constitute a predictive biomarker of cognitive-behavioral therapy response in patients with obsessive-compulsive disorder.

7. Bibliografía

1. Gottlieb DA. Pavlovian Conditioning. En: Seel NM. (eds.) Encyclopedia of the Sciences of Learning. Boston, MA: Springer US; 2012. p.2563-7.
2. McSweeney FK, Murphy ES. The Wiley Blackwell Handbook of Operant and Classical Conditioning. Chichester: Wiley Blackwell; 2014.
3. Lissek S, Powers AS, McClure EB, Phelps EA, Woldehawariat G, Grillon C, et al. Classical fear conditioning in the anxiety disorders: a meta-analysis. Behav Res Ther. 2005;43:1391-424.
4. Skinner BF, Hull CL. Principles of Behavior. Am J Psychol. 1944;57:276.
5. Mackintosh NJ. A theory of attention: Variations in the associability of stimuli with reinforcement. Psychol Rev. 1975;82:276-98.
6. Pearce JM. A model for stimulus generalization in Pavlovian conditioning. Psychol Rev. 1987;94:61-73.
7. Rescorla RA, Wagner, AR. A Theory of Pavlovian conditioning: Variations in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement. En: Black AH, Prokasy WF. (eds.) Classical conditioning: II. Current research and theory. New York: Appleton-Century-Crofts; 1972. p.64-99.
8. Wagner AR. SOP: A model of automatic memory processing in animal behavior. En: Spear NE, Miller RR. (eds.) Information processing in animals: Memory mechanisms. Hillsdale, NJ: Erlbaum; 1981. p.5-47.
9. Gallistel CR, Fairhurst S, Balsam P. The learning curve: implications of a quantitative analysis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101:13124-31.
10. Sunsay C, Bouton ME. Analysis of a trial-spacing effect with relatively long intertrial intervals. Learn Behav. 2008;36:104-15.
11. Gormezano I, Kehoe E J. Classical conditioning and the law of contiguity. En: Harzem P, Zeiler MD. (eds.) Advances in analysis of behaviour: Vol. 2. Predictability, correlation, and contiguity. Chichester, UK: John Wiley & Sons; 1981. p.1-45.
12. Gibbon J, Baldock MD, Locurto C, Gold L, Terrace HS. Trial and intertrial durations in autoshaping. J Exp Psychol Anim Behav Process. 1977;3:264-84.
13. Lattal KM. Trial and intertrial durations in Pavlovian conditioning: issues of learning and performance. J Exp Psychol Anim Behav Process. 1999;25:433-50.
14. Rescorla RA. Behavioral studies of Pavlovian conditioning. Annu Rev Neurosci. 1988;11:329-52.

15. Kehoe EJ, Macrae M. Classical conditioning of the rabbit nictitating membrane response can be fast or slow: Implications for Lennartz and Weinberger's (1992) two-factor theory. *Psychobiology*. 1994;22:1-4.
16. Gottlieb DA. Is the number of trials a primary determinant of conditioned responding? *J Exp Psychol Anim Behav Process*. 2008;34:185-201.
17. Lonsdorf TB, Menz MM, Andreatta M, Fullana MA, Golkar A, Haaker J, et al. Don't fear «fear conditioning»: Methodological considerations for the design and analysis of studies on human fear acquisition, extinction, and return of fear. *Neurosci Biobehav Rev*. 2017;77:247-85.
18. Rachman S. The return of fear: Review and prospect. *Clin Psychol Rev*. 1989;9:147-68.
19. Fullana MA, Albajes-Eizagirre A, Soriano-Mas C, Vervliet B, Cardoner N, Benet O, et al. Fear extinction in the human brain: A meta-analysis of fMRI studies in healthy participants. *Neurosci Biobehav Rev*. 2018;88:16-25.
20. Rescorla RA, Heth CD. Reinstatement of fear to an extinguished conditioned stimulus. *J Exp Psychol Anim Behav Process*. 1975;1:88-96.
21. Bolles RC. Species-specific defense reactions and avoidance learning. *Psychol Rev*. 1970;77:32-48.
22. Bolles RC, Fanselow MS. A perceptual-defensive-recuperative model of fear and pain. *Behav Brain Sci*. 1980;3:291-301.
23. Fanselow MS. Neural organization of the defensive behavior system responsible for fear. *Psychon Bull Rev*. 1994;1:429-38.
24. LeDoux J. Rethinking the emotional brain. *Neuron*. 2012;73:653-76.
25. Nesse RM. Natural selection and the regulation of defenses. *Evol Hum Behav*. 2005;26:88-105.
26. Watson JB, Rayner R. Conditioned emotional reactions. 1920. *Am Psychol*. 2000;55:313-7.
27. Norton PJ, Price EC. A meta-analytic review of adult cognitive-behavioral treatment outcome across the anxiety disorders. *J Nerv Ment Dis*. 2007;195:521-31.
28. Hermans D, Craske MG, Mineka S, Lovibond PF. Extinction in human fear conditioning. *Biol Psychiatry*. 2006;60:361-8.
29. Sehmeyer C, Schöning S, Zwitterlood P, Pfleiderer B, Kircher T, Arolt V, et al. Human Fear Conditioning and Extinction in Neuroimaging: A Systematic Review. *PLoS ONE*. 2009;4:5865.
30. Büchel C, Dolan RJ, Armony JL, Friston KJ. Amygdala-hippocampal involvement in human aversive trace conditioning revealed through event-related

- functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 1999;19:10869-76.
31. Dunsmoor JE, Bandettini PA, Knight DC. Impact of continuous versus intermittent CS-UCS pairing on human brain activation during Pavlovian fear conditioning. *Behav Neurosci.* 2007;121:635-42.
 32. Via E, Fullana MA, Goldberg X, Tinoco-González D, Martínez-Zalacaín I, Soriano-Mas C, et al. Ventromedial prefrontal cortex activity and pathological worry in generalised anxiety disorder. *Br J Psychiatry J Ment Sci.* 2018;213:437-43.
 33. Anders S, Lotze M, Wildgruber D, Erb M, Grodd W, Birbaumer N. Processing of a simple aversive conditioned stimulus in a divided visual field paradigm: an fMRI study. *Exp Brain Res.* 2005;162:213-9.
 34. Reichenberger J, Porsch S, Wittmann J, Zimmermann V, Shiban Y. Social Fear Conditioning Paradigm in Virtual Reality: Social vs. Electrical Aversive Conditioning. *Front Psychol.* 2017;8:1979.
 35. Tinoco-González D, Fullana MA, Torrents-Rodas D, Bonillo A, Vervliet B, Pailhez G, et al. Conditioned Subjective Responses to Socially Relevant Stimuli in Social Anxiety Disorder and Subclinical Social Anxiety. *Clin Psychol Psychother.* 2015;22:221-31.
 36. Gottfried JA, Dolan RJ. Human orbitofrontal cortex mediates extinction learning while accessing conditioned representations of value. *Nat Neurosci.* 2004;7:1144-52.
 37. López-Solà M, Pujol J, Hernández-Ribas R, Harrison BJ, Ortiz H, Soriano-Mas C, et al. Dynamic assessment of the right lateral frontal cortex response to painful stimulation. *NeuroImage.* 2010;50:1177-87.
 38. López-Solà M, Pujol J, Hernández-Ribas R, Harrison BJ, Contreras-Rodríguez O, Soriano-Mas C, et al. Effects of duloxetine treatment on brain response to painful stimulation in major depressive disorder. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol.* 2010;35:2305-17.
 39. Cheng DT, Disterhoft JF, Power JM, Ellis DA, Desmond JE. Neural substrates underlying human delay and trace eyeblink conditioning. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105:8108-13.
 40. Reichenberger J, Pfaller M, Forster D, Gerczuk J, Shiban Y, Mühlberger A. Men Scare Me More: Gender Differences in Social Fear Conditioning in Virtual Reality. *Front Psychol.* 2019;10:1617.
 41. Lang PJ, Bradley MM, Cuthbert BN. International Affective Picture System (IAPS): Affective ratings of pictures and instruction manual. The Center for Research in Psychophysiology, University of Florida; 2008. Reporte Técnico: A-7.
 42. Doronbekov TK, Tokunaga H, Ikejiri Y, Kazui H, Hatta N, Masaki Y, et al. Neural basis of fear conditioning induced by video clip: positron emission tomography study. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2005;59:155-62.

43. Lonsdorf TB, Gerlicher A, Klingelhöfer-Jens M, Krypotos AM. Multiverse analyses in fear conditioning research. *Behav Res Ther.* 2022;153:104072.
44. Wallin BG. Sympathetic nerve activity underlying electrodermal and cardiovascular reactions in man. *Psychophysiology.* 1981;18:470-6.
45. Lidberg L, Wallin BG. Sympathetic skin nerve discharges in relation to amplitude of skin resistance responses. *Psychophysiology.* 1981;18:268-70.
46. Neumann E, Blanton R. The early history of electrodermal research. *Psychophysiology.* 1970;6:453-75.
47. Steckle LC. A Trace Conditioning of the Galvanic Reflex. *J Gen Psychol.* 1933;9:475-80.
48. Switzer StCA. Anticipatory and inhibitory characteristics of delayed conditioned reactions. *J Exp Psychol.* 1934;17:603-20.
49. Faghih RT, Stokes PA, Marin MF, Zsido RG, Zorowitz S, Rosenbaum BL, et al. Characterization of fear conditioning and fear extinction by analysis of electrodermal activity. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Int Conf.* 2015;2015:7814-8.
50. van Dooren M, de Vries JJGGJ, Janssen JH. Emotional sweating across the body: comparing 16 different skin conductance measurement locations. *Physiol Behav.* 2012;106:298-304.
51. Fowles DC, Christie MJ, Edelberg R, Grings WW, Lykken DT, Venables PH. Committee report. Publication recommendations for electrodermal measurements. *Psychophysiology.* 1981;18:232-9.
52. Boucsein W, Fowles DC, Grimnes S, Ben-Shakhar G, roth WT, Dawson ME, et al. Publication recommendations for electrodermal measurements. *Psychophysiology.* 2012;49:1017-34.
53. Dawson ME, Schell AM, Filion DL. The electrodermal system. En: Cacioppo JT, Tassinary LG, Berntson GG. (eds.) *Handbook of Psychophysiology.* Cambridge, UK: University Press Cambridge; 2007. p.159–81.
54. Lonsdorf TB, Klingelhöfer-Jens M, Andreatta M, Beckers T, Chalkia A, Gerlicher A, et al. Navigating the garden of forking paths for data exclusions in fear conditioning research. *eLife.* 2019;8:52465.
55. Schild HH. *MRI made easy.* Berlin, Germany: H. Heenemann GmbH; 2012.
56. Logothetis NK. The underpinnings of the BOLD functional magnetic resonance imaging signal. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 2003;23:3963-71.
57. Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med.* 1995;34:537-41.

58. Smitha K, Akhil Raja K, Arun K, Rajesh P, Thomas B, Kapilamoorthy T, et al. Resting state fMRI: A review on methods in resting state connectivity analysis and resting state networks. *Neuroradiol J*. 2017;30:305-17.
59. Zang Y, Jiang T, Lu Y, He Y, Tian L. Regional homogeneity approach to fMRI data analysis. *NeuroImage*. 2004;22:394-400.
60. Zang YF, He Y, Zhu CZ, Cao QJ, Sui MQ, Liang M, et al. Altered baseline brain activity in children with ADHD revealed by resting-state functional MRI. *Brain Dev*. 2007;29:83-91.
61. Zou QH, Zhu CZ, Yang Y, Zuo XN, Long XY, Cao QJ, et al. An improved approach to detection of amplitude of low-frequency fluctuation (ALFF) for resting-state fMRI: fractional ALFF. *J Neurosci Methods*. 2008;172:137-41.
62. Heeger DJ, Ress D. What does fMRI tell us about neuronal activity? *Nat Rev Neurosci*. 2002;3:142-51.
63. Batouli SAH, Sisakhti M. Some Points to Consider in a Task-Based fMRI Study: A Guideline for Beginners. *Front Biomed Technol*. 2020;7:52-73.
64. Fullana MA, Harrison BJ, Soriano-Mas C, Vervliet B, Cardoner N, Àvila-Parcet A, et al. Neural signatures of human fear conditioning: an updated and extended meta-analysis of fMRI studies. *Mol Psychiatry*. 2016;21:500-8.
65. Bottomley PA, Edelstein WA, Foster TH, Adams WA. In vivo solvent-suppressed localized hydrogen nuclear magnetic resonance spectroscopy: a window to metabolism? *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985;82:2148-52.
66. Stagg CJ, Rothman DL. Magnetic resonance spectroscopy: tools for neuroscience research and emerging clinical applications. Amsterdam: Elsevier/Academic Press; 2014. p.359.
67. Brandão LA, Castillo M. Adult Brain Tumors: Clinical Applications of Magnetic Resonance Spectroscopy. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. 2016;24:781-809.
68. Giménez M, Cano M, Martínez-Zalacaín I, Real E, Alonso P, Segalàs C, et al. Is glutamate associated with fear extinction and cognitive behavior therapy outcome in OCD? A pilot study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2020;270:1003-14.
69. Shepherd GM. *Neurobiology*. 3a ed. Oxford, UK: Oxford University Press; 1994.
70. Myers KM, Davis M. Behavioral and neural analysis of extinction. *Neuron*. 2002;36:567-84.
71. Davis M. NMDA receptors and fear extinction: implications for cognitive behavioral therapy. *Dialogues Clin Neurosci*. 2011;13:463-74.
72. Myers KM, Carlezon WA, Davis M. Glutamate receptors in extinction and extinction-based therapies for psychiatric illness. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol*. 2011;36:274-93.

73. Hugues S, Garcia R, Léna I. Time course of extracellular catecholamine and glutamate levels in the rat medial prefrontal cortex during and after extinction of conditioned fear. *Synap N Y N*. 2007;61:933-7.
74. Burgos-Robles A, Vidal-Gonzalez I, Santini E, Quirk GJ. Consolidation of fear extinction requires NMDA receptor-dependent bursting in the ventromedial prefrontal cortex. *Neuron*. 2007;53:871-80.
75. Milad MR, Quirk GJ. Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature*. 2002;420:70-4.
76. Ruscio AM, Stein DJ, Chiu WT, Kessler RC. The epidemiology of obsessive-compulsive disorder in the National Comorbidity Survey Replication. *Mol Psychiatry*. 2010;15:53-63.
77. Nakamae T, Narumoto J, Sakai Y, Nishida S, Yamada K, Fukui K. The neural basis of dysfunctional beliefs in non-medicated patients with obsessive-compulsive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012;37:22-5.
78. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5. 5a ed. 2013.
79. Mataix-Cols D, Rosario-Campos MC do, Leckman JF. A multidimensional model of obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry*. 2005;162:228-38.
80. Cervin M, Miguel EC, Güler AS, Ferrão YA, Erdoğan AB, Lazaro L, et al. Towards a definitive symptom structure of obsessive-compulsive disorder: a factor and network analysis of 87 distinct symptoms in 1366 individuals. *Psychol Med*. 2022;52:3267-79.
81. Abramowitz JS, Franklin ME, Schwartz SA, Furr JM. Symptom presentation and outcome of cognitive-behavioral therapy for obsessive-compulsive disorder. *J Consult Clin Psychol*. 2003;71:1049-57.
82. Menzies L, Chamberlain SR, Laird AR, Thelen SM, Sahakian BJ, Bullmore ET. Integrating evidence from neuroimaging and neuropsychological studies of obsessive-compulsive disorder: the orbitofronto-striatal model revisited. *Neurosci Biobehav Rev*. 2008;32:525-49.
83. van den Heuvel OA, van Wingen G, Soriano-Mas C, Alonso P, Chamberlain SR, Nakamae T, et al. Brain circuitry of compulsivity. *Eur Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol*. 2016;26:810-27.
84. Alexander GE, DeLong MR, Strick PL. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci*. 1986;9:357-81.
85. Graybiel AM, Rauch SL. Toward a neurobiology of obsessive-compulsive disorder. *Neuron*. 2000;28:343-7.

86. Mataix-Cols D, van den Heuvel OA. Common and distinct neural correlates of obsessive-compulsive and related disorders. *Psychiatr Clin North Am.* 2006;29:391-410.
87. Henley C. *Foundations of Neuroscience.* Michigan: Michigan State University Libraries; 2021.
88. Milad MR, Rauch SL. Obsessive-compulsive disorder: beyond segregated cortico-striatal pathways. *Trends Cogn Sci.* 2012;16:43-51.
89. Milad MR, Furtak SC, Greenberg JL, Keshaviah A, Im JJ, Falkenstein MJ, et al. Deficits in conditioned fear extinction in obsessive-compulsive disorder and neurobiological changes in the fear circuit. *JAMA Psychiatry.* 2013;70:608-18.
90. Apergis-Schoute AM, Gillan CM, Fineberg NA, Fernandez-Egea E, Sahakian BJ, Robbins TW. Neural basis of impaired safety signaling in Obsessive Compulsive Disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017;114:3216-21.
91. Peng S, Zhang Y, Zhang J, Wang H, Ren B. Glutamate receptors and signal transduction in learning and memory. *Mol Biol Rep.* 2011;38:453-60.
92. Riedel G, Platt B, Micheau J. Glutamate receptor function in learning and memory. *Behav Brain Res.* 2003;140:1-47.
93. Naaijen J, Lythgoe DJ, Amiri H, Buitelaar JK, Glennon JC. Fronto-striatal glutamatergic compounds in compulsive and impulsive syndromes: a review of magnetic resonance spectroscopy studies. *Neurosci Biobehav Rev.* 2015;52:74-88.
94. Fyer AJ, Schneier FR, Simpson HB, Choo TH, Tacopina S, Kimeldorf MB, et al. Heterogeneity in Fear Processing across and within Anxiety, Eating, and Compulsive Disorders. *J Affect Disord.* 2020;275:329-38.
95. McLaughlin NCR, Strong D, Abrantes A, Garnaat S, Cerny A, O'Connell C, et al. Extinction retention and fear renewal in a lifetime obsessive-compulsive disorder sample. *Behav Brain Res.* 2015;280:72-7.
96. Nanbu M, Kurayama T, Nakazawa K, Matsuzawa D, Komiya Z, Haraguchi T, et al. Impaired P50 suppression in fear extinction in obsessive-compulsive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010;34:317-22.
97. Pöhlchen D, Priouret M, Kraft MS, Binder FP, Gürsel DA, Berberich G, et al. Examining Differences in Fear Learning in Patients With Obsessive-Compulsive Disorder With Pupillometry, Startle Electromyography and Skin Conductance Responses. *Front Psychiatry.* 2021;12:730742.
98. Craske MG, Hermans D, Vervliet B. State-of-the-art and future directions for extinction as a translational model for fear and anxiety. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2018;373:20170025.
99. Milad MR, Rosenbaum BL, Simon NM. Neuroscience of fear extinction: implications for assessment and treatment of fear-based and anxiety related disorders. *Behav Res Ther.* 2014;62:17-23.

100. Pittig A, van den Berg L, Vervliet B. The key role of extinction learning in anxiety disorders: behavioral strategies to enhance exposure-based treatments. *Curr Opin Psychiatry*. 2016;29:39-47.
101. Kaczurkin AN, Foa EB. Cognitive-behavioral therapy for anxiety disorders: an update on the empirical evidence. *Dialogues Clin Neurosci*. 2015;17:337-46.
102. Meyer V. Modification of expectations in cases with obsessional rituals. *Behav Res Ther*. 1966;4:273-80.
103. Kozak MJ, Foa EB. *Mastery of Obsessive-Compulsive Disorder: A Cognitive-Behavioral Approach Therapist Guide*. Oxford, UK: Oxford University Press; 2004.
104. Foa EB, Kozak MJ. Emotional processing of fear: exposure to corrective information. *Psychol Bull*. 1986;99:20-35.
105. Foa EB, Liebowitz MR, Kozak MJ, Davies S, Campeas R, Franklin ME, et al. Randomized, placebo-controlled trial of exposure and ritual prevention, clomipramine, and their combination in the treatment of obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry*. 2005;162:151-61.
106. Rosa-Alcázar AI, Sánchez-Meca J, Gómez-Conesa A, Marín-Martínez F. Psychological treatment of obsessive-compulsive disorder: a meta-analysis. *Clin Psychol Rev*. 2008;28:1310-25.
107. Boersma K, Hengst SD, Dekker J, Emmelkamp PM. Exposure and response prevention in the natural environment: a comparison with obsessive-compulsive patients. *Behav Res Ther*. 1976;14:19-24.
108. Foa EB, Steketee G, Milby JB. Differential effects of exposure and response prevention in obsessive-compulsive washers. *J Consult Clin Psychol*. 1980;48:71-9.
109. Song Y, Li D, Zhang S, Jin Z, Zhen Y, Su Y, et al. The effect of exposure and response prevention therapy on obsessive-compulsive disorder: A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res*. 2022;317:114861.
110. Vaccaro LD, Jones MK, Menzies RG, Wootton BM. The treatment of obsessive-compulsive checking: A randomised trial comparing danger ideation reduction therapy with exposure and response prevention. *Clin Psychol*. 2014;18:74-95.
111. Yan J, Cui L, Wang M, Cui Y, Li Y. The Efficacy and Neural Correlates of ERP-based Therapy for OCD & TS: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Integr Neurosci*. 2022;21:97.
112. Fullana MA, Zhu X, Alonso P, Cardoner N, Real E, López-Solà C, et al. Basolateral amygdala-ventromedial prefrontal cortex connectivity predicts cognitive behavioural therapy outcome in adults with obsessive-compulsive disorder. *J Psychiatry Neurosci JPN*. 2017;42:378-85.
113. Olatunji BO, Ferreira-Garcia R, Caseras X, Fullana MA, Wooderson S, Speckens A, et al. Predicting response to cognitive behavioral therapy in contamination-based

- obsessive-compulsive disorder from functional magnetic resonance imaging. *Psychol Med*. 2014;44:2125-37.
114. O'Neill J, Piacentini JC, Chang S, Levitt JG, Rozenman M, Bergman L, et al. MRSI correlates of cognitive-behavioral therapy in pediatric obsessive-compulsive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012;36:161-8.
 115. O'Neill J, Piacentini J, Chang S, Ly R, Lai TM, Armstrong CC, et al. Glutamate in Pediatric Obsessive-Compulsive Disorder and Response to Cognitive-Behavioral Therapy: Randomized Clinical Trial. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol*. 2017;42:2414-22.
 116. Ivarsson T, Melin K, Carlsson Å, Ljungberg M, Forssell-Aronsson E, Starck G, et al. Neurochemical properties measured by 1H magnetic resonance spectroscopy may predict cognitive behaviour therapy outcome in paediatric OCD: a pilot study. *J Neural Transm*. 2021;128:1361-70.
 117. Bédard MJ, Chantal S. Brain magnetic resonance spectroscopy in obsessive-compulsive disorder: the importance of considering subclinical symptoms of anxiety and depression. *Psychiatry Res*. 2011;192:45-54.
 118. Simpson HB, Shungu DC, Bender J, Mao X, Xu X, Slifstein M, et al. Investigation of cortical glutamate-glutamine and γ -aminobutyric acid in obsessive-compulsive disorder by proton magnetic resonance spectroscopy. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol*. 2012;37:2684-92.
 119. Berry AC, Rosenfield D, Smits JAJ. Extinction retention predicts improvement in social anxiety symptoms following exposure therapy. *Depress Anxiety*. 2009;26:22-7.
 120. Craig ADB. How do you feel--now? The anterior insula and human awareness. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10:59-70.
 121. Medford N, Critchley HD. Conjoint activity of anterior insular and anterior cingulate cortex: awareness and response. *Brain Struct Funct*. 2010;214:535-49.
 122. Cano M, Martínez-Zalacaín I, Giménez M, Torrents-Rodas D, Real E, Alonso P, et al. Neural correlates of fear conditioning and fear extinction and its association with cognitive-behavioral therapy outcome in adults with obsessive-compulsive disorder. *Behav Res Ther*. 2021;144:103927.
 123. Hiser J, Koenigs M. The Multifaceted Role of the Ventromedial Prefrontal Cortex in Emotion, Decision Making, Social Cognition, and Psychopathology. *Biol Psychiatry*. 2018;83:638-47.
 124. Robbins TW, Vaghi MM, Banca P. Obsessive-Compulsive Disorder: Puzzles and Prospects. *Neuron*. 2019;102:27-47.
 125. McGuire JF, Orr SP, Wu MS, Lewin AB, Small BJ, Phares V, et al. Fear conditioning and extinction in youth with obsessive-compulsive disorder. *Depress Anxiety*. 2016;33:229-37.

126. Luigjes J, Figee M, Tobler PN, van den Brink W, de Kwaasteniet B, van Wingen G, et al. Doubt in the Insula: Risk Processing in Obsessive-Compulsive Disorder. *Front Hum Neurosci.* 2016;10:283.
127. Schultchen D, Zaudig M, Krauseneck T, Berberich G, Pollatos O. Interoceptive deficits in patients with obsessive-compulsive disorder in the time course of cognitive-behavioral therapy. *PloS One.* 2019;14:0217237.
128. Marin MF, Zsido RG, Song H, Lasko NB, Killgore WDS, Rauch SL, et al. Skin Conductance Responses and Neural Activations During Fear Conditioning and Extinction Recall Across Anxiety Disorders. *JAMA Psychiatry.* 2017;74:622-31.
129. Gorka SM, Young CB, Klumpp H, Kennedy AE, Francis J, Ajilore O, et al. Emotion-based brain mechanisms and predictors for SSRI and CBT treatment of anxiety and depression: a randomized trial. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol.* 2019;44:1639-48.
130. Pessoa L. How many brain regions are needed to elucidate the neural bases of fear and anxiety? *Neurosci Biobehav Rev.* 2023;146:105039.
131. Wenzel A. Basic Strategies of Cognitive Behavioral Therapy. *Psychiatr Clin North Am.* 2017;40:597-609.
132. Fitzgerald PJ, Seemann JR, Maren S. Can fear extinction be enhanced? A review of pharmacological and behavioral findings. *Brain Res Bull.* 2014;105:46-60.
133. Koran L, Simpson HB. Guideline Watch (March 2013): practice guideline for the treatment of patients with obsessive-compulsive disorder. *APA Pr Guid.* 2013;1-22.
134. Stanley JA, Raz N. Functional Magnetic Resonance Spectroscopy: The «New» MRS for Cognitive Neuroscience and Psychiatry Research. *Front Psychiatry.* 2018;9:76.