



**Universidad de Granada
Facultad de Psicología**

**Área de Psicobiología
Departamento de Psicología Experimental y Fisiología del
Comportamiento**

**ANÁLISIS FISIOLÓGICO Y FARMACOLÓGICO DE LOS
COMPONENTES AVERSIVO Y APETITIVO DE LA
ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DE LOS SISTEMAS
CEREBRALES DE RECOMPENSA**

TESIS DOCTORAL

M^a MAGDALENA HURTADO LARA

Granada, 2011

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: María Magdalena Hurtado Lara
D.L.: GR 968-2012
ISBN: 978-84-694-9348-9



D. AMADEO PUERTO SALGADO, Catedrático de Psicobiología de la Universidad de Granada.

CERTIFICA:

Que como Director de la Tesis Doctoral “Análisis fisiológico y farmacológico de los componentes aversivo y apetitivo de la estimulación eléctrica de los sistemas cerebrales de recompensa” realizada por la doctoranda M^a Magdalena Hurtado Lara, en el Laboratorio de Psicobiología del Departamento de Psicología Experimental y Fisiología del Comportamiento de la Universidad de Granada, ha examinado el mencionado trabajo y hace constar su autorización para que sea presentada en la Facultad de Psicología y se inicien los trámites conducentes a la defensa de la misma.

Y para que así conste, expido el presente, que firmo en Granada, a 1 de Junio de 2011.

Firmado: Dr. Amadeo Puerto Salgado.

ANÁLISIS FISIOLÓGICO Y FARMACOLÓGICO DE LOS
COMPONENTES AVERSIVO Y APETITIVO DE LA
ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DE LOS SISTEMAS CEREBRALES
DE RECOMPENSA

M^a Magdalena Hurtado Lara

Área de Psicobiología

Departamento de Psicología Experimental y Fisiología del Comportamiento

TESIS DOCTORAL

Director: Dr. Amadeo Puerto Salgado

Universidad de Granada

2011

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que, de una manera u otra, han participado en el desarrollo de este trabajo:

En primer lugar, quisiera agradecer al profesor Amadeo Puerto, director de esta tesis, la oportunidad que me brindó al recibirme en su laboratorio como doctoranda y la paciencia que ha demostrado en mis idas y venidas –y no sólo metafóricas-. Tu entusiasmo y dedicación han sido un valioso ejemplo para mí.

A los profesores y amigos Filomena Molina, Cristina Mediavilla, M^a Ángeles Zafra, M^a José Simón, Antonio Bernal y Javier Mahía, y también a Antonio Agüera, por apoyarme y ayudarme siempre que los he necesitado.

A mi compañera y amiga, Raquel García, por su inestimable colaboración en mi formación técnica y, sobre todo, las largas horas compartidas de laboratorio, las charlas, los cafés... Gracias por tu ejemplo y por tu ánimo.

A mis tutoras PIR y amigas, Josefa Alganza, Pilar Munera y especialmente a Mercedes Prieto, que durante mi formación como psicóloga clínica siempre apoyaron y animaron la realización de esta Tesis como un objetivo prioritario para mí.

A mis padres y a mis tíos Manolo y Miguel, por enseñarme que la perseverancia y el esfuerzo son el mejor camino para conseguir nuestros objetivos, y por su presencia y apoyo incondicionales. Y a Julio, por ser mi compañero y aceptar con paciencia las renuncias que también para él ha supuesto la realización de esta Tesis.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
1. Manifestaciones comportamentales de Recompensa y Aversión inducidas a través de estimulación eléctrica intracerebral.	7
1.1. Autoestimulación eléctrica intracerebral (AEIC).	7
1.2. Aversión inducida mediante estimulación eléctrica intracerebral.	8
2. Otras interpretaciones del fenómeno de la AEIC: Relación con la conducta motivada natural.	9
3. Relación de la estimulación eléctrica intracerebral aversiva con la conducta motivada natural.	12
4. Circuitos cerebrales implicados en la Autoestimulación Eléctrica Intracerebral (AEIC).	15
5. Circuitos cerebrales implicados en la estimulación eléctrica intracerebral de índole aversiva.	17
6. Farmacología de la Autoestimulación Eléctrica Intracerebral.	18
7. Farmacología de la conducta aversiva y la estimulación eléctrica intracerebral aversiva.	25
8. Dopamina, opiáceos y conducta motivada.	31
8.1. La vía dopaminérgica mesolímbica.	31
8.2. Funciones de la dopamina en el procesamiento de las manifestaciones de recompensa.	34

8.3. Sistemas neuroquímicos implicados en la valoración hedónica de los estímulos. El sistema opiáceo como candidato.	40
8.4. Estímulos reforzantes naturales y artificiales.	45
Condicionamiento de Preferencias/Aversiones hacia un Lugar.	46
9. Organización anatómica del Complejo Parabraquial.	50
9.1. Organización interna.	50
9.2. Aferencias del Núcleo Parabraquial Medial.	52
9.3. Eferencias del Núcleo Parabraquial Medial.	53
9.4. Aferencias del Núcleo Parabraquial Lateral.	55
9.5. Eferencias del Núcleo Parabraquial Lateral.	56
9.6. Proyecciones del Núcleo Parabraquial Lateral Externo.	58
9.7. Neuroquímica del Complejo Parabraquial.	59
10. Funciones regulatorias y fisiológicas relacionadas con el Complejo Parabraquial.	62
11. Organización anatómica de la corteza insular.	69
11.1. Organización interna.	69
11.2. Conexiones corticales.	73
11.3. Conexiones subcorticales.	74
11.4. Neuroquímica de la corteza insular.	78
12. Funciones de la Corteza Insular.	79
OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN	85

CAPÍTULO I: BLOQUEO FARMACOLÓGICO DE LA AVERSIÓN HACIA UN LUGAR INDUCIDA MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO.	91
EXPERIMENTO 1: Aversión hacia un lugar inducida mediante estimulación eléctrica del subnúcleo parabraquial lateral externo: Efecto de la naloxona.	96
Método.	96
Resultados.	103
EXPERIMENTO 2: El tiapride, un antagonista D2/D3, bloquea la aversión hacia un lugar inducida mediante estimulación eléctrica del subnúcleo parabraquial lateral externo.	105
Método.	105
Resultados.	106
EXPERIMENTO 3: Análisis del comportamiento motor inducido por el Tiapride durante el bloqueo de la aversión hacia un lugar inducida mediante estimulación eléctrica del subnúcleo parabraquial lateral externo.	109
Método.	109
Resultados.	112
Discusión.	115

CAPÍTULO II: EFECTOS DIFERENCIALES DE LOS ANTAGONISTAS DOPAMINÉRGICOS Y OPIÁCEOS SOBRE LAS PREFERENCIAS POR UN LUGAR INDUCIDAS MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO.	121
EXPERIMENTO 4: Preferencia por un lugar inducida mediante estimulación eléctrica del subnúcleo parabraquial lateral externo: Estudio de la implicación dopaminérgica a través de la administración de tiapride.	125
Método.	125
Resultados.	128
EXPERIMENTO 5: Efecto de la naloxona sobre las preferencias por un lugar inducidas mediante estimulación eléctrica del subnúcleo parabraquial lateral externo.	130
Método.	130
Resultados.	132
Discusión.	135
 CAPÍTULO III: PREFERENCIA POR UN LUGAR INDUCIDA MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO EN UNA TAREA DE APRENDIZAJE SECUENCIAL.	 139
EXPERIMENTO 6: Preferencia por un lugar inducida mediante estimulación eléctrica del subnúcleo parabraquial lateral externo en una tarea de aprendizaje secuencial.	144
Método.	144
Resultados.	147
Discusión.	152

CAPÍTULO IV: EFICACIA RECOMPENSANTE DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA REPETIDA DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO Y DE LA CORTEZA INSULAR.	157
EXPERIMENTO 7: Eficacia reforzante de la estimulación eléctrica repetida del núcleo parabraquial lateral externo.	162
Método.	162
Resultados.	166
EXPERIMENTO 8: Eficacia reforzante de la estimulación eléctrica repetida de la corteza insular.	170
Método.	170
Resultados.	174
Discusión.	178

CAPÍTULO V: CONSISTENCIA REFORZANTE DE LAS DISTINTAS MODALIDADES DE ADMINISTRACIÓN DE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA EN EL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO.	183
EXPERIMENTO 9: Consistencia reforzante de las distintas modalidades de administración de estimulación eléctrica en el subnúcleo parabraquial lateral externo.	187
Método	187
Resultados	191
Discusión	195
DISCUSIÓN GENERAL	199
CONCLUSIONES	235
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	239

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

La necesidad de adaptarse a los cambios del medio externo e interno ha provocado, en las distintas especies, un importante desarrollo de las áreas cerebrales implicadas en el aprendizaje (Rozin & Kalat, 1971). Esta capacidad de aprender de la experiencia previa resulta esencial para la supervivencia propia y la de la especie. Básicamente, se trataría de mantener algunas conductas que tienen consecuencias positivas, como la búsqueda de alimento y agua, y de eliminar del repertorio conductual aquellos comportamientos que puedan tener consecuencias negativas para la supervivencia, como sería la exposición a depredadores o a temperaturas extremas (Elliot et al., 2000; Kelley, 2004).

Aunque, en el ámbito de la nutrición, la evidencia disponible sugiere la existencia de mecanismos innatos (por ejemplo, el hambre específica al sodio), la mayoría de los efectos experimentales relacionados con este comportamiento han sido interpretados en términos de aprendizaje (Rozin & Kalat, 1971), como es el caso del aprendizaje aversivo gustativo para la evitación de productos tóxicos o nocivos (García, 1989).

En este sentido, los autores clásicos propusieron que el aprendizaje de un comportamiento depende de las consecuencias que de él se deriven. Así, Edward L. Thorndike, por ejemplo, desarrolló en 1911 la Ley del Efecto, según la cual, si una conducta tiene como consecuencia un resultado satisfactorio (recompensante) tiende a fortalecerse, de manera que será más probable que se repita cuando se den las mismas circunstancias en el futuro. Sin embargo, si esa consecuencia de la conducta resulta aversiva, será menos probable que se reproduzca en el futuro.

Este tipo de concepción teórica no implica en el sujeto (objeto del condicionamiento) un estado motivacional o afectivo determinado, la atención se situaba en el resultado del aprendizaje, ignorando, por tanto, todo tipo de variables intervinientes en el cambio conductual. A mediados del siglo XX, aparecen nuevas propuestas que incorporan las variables motivacionales. Y así, Hull (1943), con su Teoría del Drive (Impulso), señalaba que cualquier estímulo o condición capaz de reducir un estado de desequilibrio o necesidad del organismo se

convertiría en reforzador (Toates, 1989; Molina & Puerto, 1990). Dentro de esta nueva conceptualización, las necesidades del organismo generan impulsos primarios y biológicos, cuya satisfacción fortalecería la asociación entre la situación estimular y las respuestas que han precedido la reducción del impulso. El valor reforzante de un estímulo no sería una propiedad intrínseca e inalterable del mismo, sino que variaría en función de las necesidades del organismo. El alimento actuará como un reforzador positivo de la conducta sólo en el caso de que exista un déficit en las reservas de energía del organismo (Berridge, 1991; 1996; Carr & Papadouka, 1994; Nader & Van der Kooy, 1997; Schwartz, 2000). Por el contrario, cuando el consumo de un alimento particular es asociado a malestar gastrointestinal, suele producirse un estado aversivo que propiciará que dicho alimento sea rechazado en el futuro, actuando en este caso como un estímulo aversivo (Bernstein, 1999; Toates, 2001; Scalera, 2002; Parker et al., 2002; Davis & Riley, 2010).

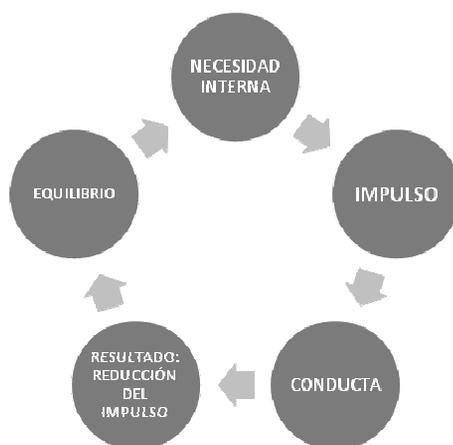


Figura 1. Proceso seguido por las acciones biológicamente adaptativas, según la Teoría del Impulso.

Por otra parte, estos mecanismos motivacionales primarios pueden servir también de soporte para la adquisición de impulsos adquiridos o secundarios mediante condicionamientos de segundo orden. Para la Teoría del Impulso, la finalidad fundamental de la conducta no es otra que reestablecer las alteraciones en el equilibrio homeostático provocadas por las necesidades biológicas.

Sin embargo, una gran variedad de resultados experimentales han puesto de manifiesto las limitaciones de la concepción hulliana de la motivación y de su modelo de reducción de impulsos. De hecho, el propio Hull, al final de su carrera, admitió la relevancia del factor de incentivo en la motivación (Mayor & Tortosa, 1997).

La Teoría del Incentivo, propuesta por Spence, complementa el modelo de reducción de impulsos. El incentivo puede conceptualizarse actualmente como el estado cognitivo y afectivo desencadenado por estímulos asociados con el estímulo incondicionado (Ikemoto & Panksepp, 1999). En otras palabras, la motivación de incentivo es un proceso en el que las respuestas de aproximación o evitación son generadas por estímulos que predicen la proximidad o disponibilidad de estímulos incondicionados, aunque éstos puedan tener valencia hedónica positiva o negativa. Ahora, se otorga un papel clave a las representaciones mentales del mundo externo que inducen motivación y planes de acción dirigidos a la consecución de una meta (Bindra, 1974; Molina & Puerto, 1990; Kelley & Berridge, 2002).

Fruto de este desarrollo teórico y de las diversas pruebas conductuales disponibles, se pueden distinguir dos tipos básicos de mecanismos implicados en la regulación motivacional del organismo: unos estrictamente regulatorios y otros de tipo propositivo (Robbins & Everitt, 1996).

Los primeros serían los encargados de regular las respuestas consumatorias, es decir, un tipo de conducta más o menos estereotipada que se produce habitualmente ante la presencia de los reforzadores (por ejemplo, la conducta de ingesta ante la presencia de un determinado alimento). La *perspectiva regulatoria* se centra en explicar las respuestas del organismo como fruto de fuerzas internas aversivas (como el hambre o el dolor) y de la manera en que el organismo intenta restaurar el equilibrio con la finalidad de mantener los sistemas fisiológicos dentro de unos límites que hagan posible la supervivencia. Desde esta perspectiva, se considera que la recompensa obtenida después de realizar una acción determinada se convertiría en reforzador, es decir, aumentaría la probabilidad de que esa misma acción ocurra en el futuro siempre que el animal se vea sometido a condiciones similares.

Por su parte, el *planteamiento propositivo* pretende incorporar la relevancia de las conductas dirigidas a metas y, en este sentido, implicaría, sobre todo, a las respuestas preparatorias de aproximación o búsqueda del estímulo, caracterizadas por una gran flexibilidad. Esta propuesta surge ante la imposibilidad de explicar, desde la aproximación regulatoria, ciertos efectos muy validados experimentalmente, como por ejemplo el aprendizaje latente (Tolman & Honzik, 1930b; Shohamy et al., 2000; Rodríguez & Alonso, 2002) o los efectos de contraste (McSweeney & Melville, 1993).

Esta aproximación suele estar más orientada hacia el futuro y no relaciona de manera tan estrecha la motivación con la necesidad fisiológica. Ahora, la recompensa obtenida por el organismo, al llevar a cabo una acción determinada, actúa como incentivo, es decir, servirá al organismo para predecir los posibles resultados de esa acción y, de esta manera, anticipar si el resultado de una determinada acción es más deseable que los demás resultados disponibles (Robbins & Everitt, 1996; Balleine & Dickinson, 2002).

En este contexto, y con una perspectiva más integral de la motivación, algunos estudios posteriores han revelado que los estímulos que actúan como reforzadores poseen ciertas características diferenciales (Salamone et al., 1997), que pueden ser resumidas de la siguiente manera:

- Los reforzadores proporcionan un feedback de control sobre la respuesta manifestada en el condicionamiento.
- Los reforzadores positivos son estímulos hacia los que se dirige la conducta, y el organismo actúa de manera que incrementa la probabilidad de conseguirlos.
- Los reforzadores incrementan la activación conductual.

Para el análisis y medida de estos reforzadores se han descrito numerosos procedimientos que han permitido objetivar su impacto motivacional como, por ejemplo, la cuantificación de las conductas consumatorias, la tasa de presión de una palanca o el condicionamiento de preferencias espaciales y gustativas, entre otras que ahora no se van a desarrollar (Olds & Milner, 1954; Bozarth, 1987; Mucha et al., 1982; Liebman, 1989; McBride, Murphy & Ikemoto, 1999; Delamater et al., 2000; Saper et al., 2002). Sin embargo, conviene destacar, desde el principio, que el descubrimiento de los mecanismos cerebrales que subyacen al refuerzo/recompensa está asociado a la obra clásica de Old y Milner (1954) y al fenómeno de la Autoestimulación Eléctrica Intracerebral.

1. MANIFESTACIONES COMPORTAMENTALES DE RECOMPENSA Y AVERSIÓN INDUCIDAS A TRAVÉS DE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA INTRACEREBRAL.

1.1. AUTOESTIMULACIÓN ELÉCTRICA INTRACEREBRAL (AEIC).

Es un hecho repetidamente demostrado que tanto los animales como los seres humanos desarrollan conductas instrumentales que le permiten administrarse intracerebralmente estimulación eléctrica, una estimulación que en el caso de las personas es descrita como placentera (Olds & Milner, 1954; Heath, 1963, 1972, citados por Wise, 1996). Este tipo de conducta instrumental ha sido denominada autoestimulación eléctrica intracerebral e implica la activación de sistemas endógenos de recompensa que han venido siendo identificados a lo largo de los años (Hoebel, 1976; Wise & Rompré, 1989).

El descubrimiento de la Autoestimulación Eléctrica Intracerebral (AEIC) supuso una aportación crucial al estudio preciso de los mecanismos cerebrales de la recompensa. Así, metodológicamente se estima que la potencia de la estimulación decrece con el cuadrado de la distancia respecto al extremo del electrodo y decae hasta niveles mínimos en un radio de fracciones de milímetro, aunque no discrimina acerca del tipo de neuronas que activa (Wise & Rompré, 1989; Yeomans, 1990).

De hecho, esta especificidad anatómica de la activación puede ser incrementada a través de manipulaciones en los parámetros de la corriente eléctrica aplicada, como la frecuencia, que puede oscilar entre 20 y 200 Hz, variaciones en la intensidad (relacionada con el tamaño del campo estimulado) y la duración de los trenes eléctricos y de los pulsos eléctricos, normalmente en torno a 0,1 milisegundo (Gallistel, 1983; Yeomans, 1990).

Una de las hipótesis propuestas con respecto al fenómeno de la AEIC establecería una total equivalencia entre los circuitos implicados en AEIC y los implicados en procesos de refuerzo natural. Sin embargo, algunos estudios posteriores han cuestionado esta propuesta y, alternativamente, sugieren que la conducta instrumental dirigida a uno y otro tipo de refuerzo puede presentar ciertas características diferenciales, al tiempo que destacan las peculiaridades de la conducta de autoestimulación (Markou et al., 1993):

Una de estas características diferenciales es la persistencia no saciadora de la AEIC, que lleva a los organismos a mantener la conducta operante durante horas e incluso días, hasta el agotamiento, ignorando cualquier otra actividad (Routtenberg & Lindy, 1965; Spies, 1965), sin requerir además de un estado de privación para la ejecución de esta conducta (Olds, 1958).

A pesar de la extraordinaria persistencia de la conducta de autoestimulación, este fenómeno comportamental se caracteriza también por una extremada labilidad, que se manifiesta a través de un rápido proceso de extinción del comportamiento instrumental cuando la estimulación deja de ser administrada (Seward et al., 1959). Así, un alto ritmo de respuesta se contrapone a un rápido “olvido” de la conducta al cabo de unos minutos sin obtener estimulación (Gallister, 1983), algo muy distinto del patrón típico de extinción relacionado con los refuerzos naturales y caracterizado por un ligero incremento en la tasa de respuesta seguido de un descenso progresivo. Este resultado no deja de ser sorprendente, ya que una alta tasa de respuesta es un factor indicativo de un alto poder de refuerzo, mientras que el cese inmediato de la conducta al eliminar el estímulo reforzante es indicativo de todo lo contrario. Por otra parte, la ejecución errática durante la AEIC cuando la estimulación es controlada por un programa de reforzamiento parcial, suele ser muy diferente a lo observado con los reforzadores naturales. De hecho, se produce un importante deterioro en la ejecución cuando la administración de la corriente eléctrica se demora más allá de un segundo (Black et al., 1985) o los intervalos entre ensayos son excesivamente largos, hasta el punto de que incluso los animales con una amplia experiencia en AEIC pueden no reanudar la conducta de presionar la palanca cuando de nuevo se les ofrece la oportunidad de recibir recompensa cerebral después de habérsela retirado brevemente. En todos estos casos, es necesario incitar la respuesta (“*priming*”) para lograr que los animales puedan volver a realizar la conducta instrumental. En estos casos, el experimentador debe proporcionar al animal algunos pulsos de estimulación no contingente para que finalmente los animales puedan volver al habitual ritmo de AEIC (Wetzel, 1963; Stellar & Gallistel, 1975).

1.2. AVERSIÓN INDUCIDA MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA INTRACEREBRAL.

En sentido opuesto al anterior, también se ha comprobado que un incremento gradual de la estimulación eléctrica aplicada a determinadas áreas cerebrales puede inducir progresivamente respuestas de activación fisiológica, de inmovilización e incluso de escape (Coimbra et al., 1992; 1996; Melo & Brandao, 1995; Maissonette et al., 1996; Coimbra & Brandao, 1997; Brandao et al., 2003). Se considera que estas respuestas serían debidas a la

naturaleza aversiva de la estimulación eléctrica en estas regiones cerebrales, de modo que los animales desarrollan rápidamente conductas operantes que les permitan interrumpir dicha estimulación (Delgado, Roberts & Miller, 1954; Kiser et al., 1978a; 1878b; Carr et al., 1982; Depoortere et al., 1990a; 1990b; Gomita et al., 1991; 2003; Melo & Brandao, 1995; Diotte et al., 2001). Más aún, en algunos casos este tipo de estimulación puede provocar incluso reacciones analgésicas (Akil & Liebeskind, 1975; Prado & Roberts, 1985; Coimbra et al., 1992; Coimbra & Brandao, 1997; Castilho et al., 1999), además de cambios en la presión sanguínea, el ritmo cardíaco y la respiración (Brandao et al., 2003).

Por su naturaleza negativa y potencialmente inespecífica, este efecto aversivo de la estimulación eléctrica cerebral ha recibido menor atención en la bibliografía científica, si bien su estudio podría considerarse, en cierto sentido, complementario al de la AEIC. Así, se han observado importantes interacciones entre la estimulación eléctrica intracerebral recompensante y la aversiva a distintos niveles neuroanatómicos (Carr & Coons, 1982; Schmitt & Karli, 1984; Anderson, Diotte & Miliaressis, 1995; Diotte et al., 2000). Concretamente, se ha comprobado que la estimulación recompensante generada en el área tegmental ventral (ATV) o en el hipotálamo lateral, contrarresta la aversión inducida por estimulación eléctrica del núcleo reticular gigantocelular (Carr & Coons, 1982; Anderson et al., 1995; Diotte et al., 2000). Por otra parte, esta estimulación aversiva reduce la eficacia reforzante de la estimulación en el ATV (Anderson et al., 1995), aunque incrementa la del hipotálamo lateral (Diotte et al., 2000). Estas interacciones entre los sistemas cerebrales de recompensa y aversión dependen de la localización exacta del electrodo, de la intensidad de la corriente aplicada y de la potencia motivacional de la recompensa y la aversión inducidas (Carr & Coons, 1982; Schmitt & Karli, 1984).

2. OTRAS INTERPRETACIONES TEÓRICAS DEL FENÓMENO DE LA AEIC EN RELACIÓN CON LA CONDUCTA MOTIVADA NATURAL.

En relación con el significado funcional, en general, y motivacional, en particular, de la AEIC, Miller (1957) relacionó este fenómeno con la teoría de reducción de impulsos, según la cual cualquier estímulo o condición capaz de reducir un estado de desequilibrio se convertirá en reforzador (Toates, 1989; Molina & Puerto, 1990). Por su parte, Olds, descubridor del fenómeno,

relacionaba la AEIC con la activación de los “centros del placer en el cerebro”, es decir, mantenía inicialmente un planteamiento claramente hedonista.

Sin embargo, la hipótesis más aceptada con respecto al significado funcional de la AEIC es (con las salvedades mencionadas más arriba) la que establece una cierta equivalencia entre los circuitos implicados en este fenómeno artificial y los implicados en procesos de refuerzo natural.

Así, en primer lugar, se ha encontrado una cierta coincidencia entre las zonas de la AEIC y las implicadas en conductas homeostáticas como la ingesta de alimento o agua (Olds & Fobes, 1981; Rolls, 1982; 1994; Wise & Rompré, 1989; Robbins & Everitt, 1999).

Concretamente, por ejemplo, algunas conductas motivadas naturales, como la ingesta de alimento o agua, o la conducta sexual, pueden ser inducidas mediante la estimulación eléctrica de zonas hipotalámicas (Vaughan & Fisher, 1962; Caggiula & Hoebel, 1966; Christopher & Butter, 1968; Caggiula, 1970; Wise, 1974; Hoebel, 1976) o en el ATV (Trojnar et al., 2007), áreas que también sustentan conductas de AEIC.

Más aún, los incrementos en la motivación natural se suelen acompañar de aumentos de la tasa de AEIC (Hoebel, 1976; Carr & Papadouka, 1994). Así, muchos de los factores que influyen en el consumo de alimento afectan, en la misma dirección, a la conducta de AEIC. Es el caso de la privación de alimento, la ingesta forzada o intragástrica, la obesidad o la administración de adrenalina, entre otros (Brady et al., 1957; Phillips & Mogenson, 1968; Hoebel & Thompson, 1969; Stellar & Gallistel, 1975; Hoebel, 1976). De hecho, la privación de alimento puede incrementar la respuesta de AEIC durante la fase de extinción (Deutsch & DiCara, 1967).

En esta línea, Rolls y su grupo de la Universidad de Oxford (Burton et al., 1976; Rolls, 1994) han encontrado que las neuronas del hipotálamo lateral que normalmente se activan ante la visión de comida cuando los animales están privados de alimento, se activaban también durante la AEIC, un resultado a favor de la potencial coincidencia anatómica de los reforzadores naturales y la AEIC.

Por otra parte, se ha propuesto que las diferencias existentes entre las conductas instrumentales dirigidas a conseguir AEIC y las recompensas naturales en el aspecto relacionado con su persistencia y su labilidad pueden deberse, al menos parcialmente, a factores metodológicos. Así, Panksepp y Trowill (1967) entrenaron a los animales a autoadministrarse leche con chocolate directamente en la cavidad oral (mediante una cánula) presionando una palanca. Una vez extingüida la respuesta de presión, la administración intraoral de esta

sustancia de manera no contingente al comportamiento de los animales provocó que tanto los roedores privados como los saciados reiniciaran las conductas de autoadministración.

Para explicar las diferencias entre la conducta motivada natural y la conducta de autoestimulación, Deustch y Deustch (1973) han propuesto una hipótesis según la cual el fenómeno de la AEIC se produce porque el radio de acción del electrodo de estimulación activaría dos circuitos independientes: uno implicado en el impulso (*drive*) y el otro relacionado con el refuerzo (*reinforcement*). De esta manera, el efecto de la estimulación durante la AEIC no sólo implicaría el refuerzo de la última conducta realizada, sino que también induciría motivación para la siguiente, una dinámica que explicaría la extremada intensidad y persistencia del fenómeno (Gallistel, 1983). Sin embargo, esta motivación inducida disminuiría rápidamente (*"drive decay"*) tras interrumpir la estimulación, desapareciendo el déficit y el consiguiente refuerzo (Deutsch et al., 1964). Según J. A. Deutsch, lo que sucede no es que el animal desaprenda la conducta, como ocurre con el proceso de extinción normal, sino que el impulso para realizarla ya no se produce. Existen datos, sin embargo, que revelan patrones de extinción más normalizados cuando los animales se exponen repetidamente a la propia situación de extinción tras sesiones de AEIC de duración constante (Herberg, 1963).

El grupo de la Universidad de California propone que estos dos circuitos deberían ser estimulados simultáneamente para que el fenómeno de la AEIC se produjera, ya que el refuerzo y el déficit dispondrían de sustratos anatómicos diferenciados (Deutsch & Deutsch, 1973). Desafortunadamente, las diferencias en el periodo refractario atribuidas inicialmente a uno y otro sistema no parecen representar una base empírica concluyente para la diferenciación del sustrato anatómico del impulso y el refuerzo (Gallistel, 1983). Una base argumental alternativa más poderosa es la farmacológica, ya que se ha demostrado que la pimocida bloquea el efecto reforzante de la estimulación del Haz Prosencefálico Medial, pero no el efecto de la estimulación sobre el factor de impulso (Wasserman et al., 1982).

En consonancia con esta hipótesis, son varios los autores que han sugerido que la AEIC provoca dos tipos de efectos: induce conductas de aproximación y al mismo tiempo permite el fortalecimiento de conexiones entre un estímulo y sus consecuencias, es decir, facilita el aprendizaje (Wise & Rompré, 1989; White, 1989; White & Milner, 1992; Saitoh & Inokuchi, 2000; Ruiz-Medina et al., 2008; Huguet et al., 2009). Ambas propiedades serían independientes, tal y como se ha podido demostrar a través de experimentos en los que los animales pueden aprender una conducta operante con objeto de conseguir la estimulación de su propio cerebro, a la vez que facilita la adquisición de respuestas de signo contrario, como escape o evitación (Stein, 1965; Capdevila-Ortis et al., 1988).

En este sentido, se han identificado conductas motivadas naturales que presentan los dos efectos de la AEIC, el refuerzo de la conducta y un incremento del impulso para llevarla a cabo. Este sería el caso de la interacción agresiva (Hogan & Bols, 1980; citada en Gallistel, 1983) y la conducta sexual (Beach & Jordan, 1956; citada en Gallistel, 1983), en ambos casos, impulsos no homeostáticos.

Se ha examinado, en fin, la relación entre la AEIC y la ingesta de agua, aunque ahora la conducta de autoestimulación (en electrodos que pueden inducir la ingesta de agua) no se ve afectada por la privación o la ingesta excesiva de líquido (Mogenson, 1969). Este dato es sorprendente sobre todo si se tiene en cuenta que el consumo de agua sí inhibe la ingesta inducida por la estimulación (Devor et al., 1970, citado en Hoebel, 1976).

Se puede mencionar también cómo la AEIC de algunas estructuras cerebrales se incrementa en ambientes fríos mientras que se reduce con las temperaturas elevadas (Briese et al., 1966, citado en Hoebel, 1976). Además, la estimulación eléctrica aplicada a ciertas estructuras (hipotálamo, septum y prosencéfalo rostral) suele incrementar la temperatura corporal del animal (Crawshaw & Carlisle, 1974), lo que puede sugerir cierta relación entre la AEIC y la termorregulación.

Finalmente, Steiner y Ellman (1972, en Hoebel, 1976), demostraron que la privación de sueño REM aumentaba la frecuencia de autoestimulación, mientras que esta autoestimulación podría sustituir, de alguna manera, al sueño REM.

3. RELACIÓN DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA INTRACEREBRAL AVERSIVA CON LA CONDUCTA MOTIVADA NATURAL.

El estudio de la relación entre la estimulación eléctrica intracerebral aversiva y la conducta motivada natural ha sido prolífico sobre todo en el campo de la nutrición, si bien existen interesantes resultados con respecto a la conducta sexual.

La estimulación eléctrica del hipotálamo lateral puede inducir un marcado componente aversivo, que puede ser relacionado con la aversión derivada de una saciedad excesiva. Uno de los procedimientos utilizados para el estudio de este componente aversivo de la AEIC ha consistido en establecer fases alternativas de autoestimulación y de escape, habitualmente de cinco minutos de duración cada una. Durante la fase de autoestimulación, el animal deberá presionar una palanca que le permita obtener estimulación durante una fracción de tiempo,

mientras que durante la fase de escape, se administra al animal la corriente (con el mismo electrodo), de manera que éste puede interrumpirla durante varios segundos cada vez que presione un pedal alternativo. Como cabría esperar, la frecuencia de presión del pedal es mucho mayor durante las fases de autoestimulación (p.ej. varios cientos de veces en cinco minutos) que durante las fases de escape (de diez a veinte veces).

En este contexto, se ha comprobado que el componente aversivo de la autoestimulación es mayor cuanto más medialmente se localiza el electrodo en el hipotálamo lateral (Margules, 1966; Hoebel, 1976). Lógicamente, con casi cualquier electrodo, cuando aumenta la autoestimulación, se reducen las respuestas de escape, y viceversa. Este cambio recíproco se observa tanto de manera espontánea como en los casos en los que se manipula la variable nutritiva o la conducta sexual (Hoebel, 1976). Asimismo, intervenciones que generen *arousal* fisiológico hacen que los dos tipos de conductas se incrementen, mientras que si la intervención es sedativa ocurre lo contrario, ambas disminuyen.

Al examinar la relación entre la estimulación eléctrica del hipotálamo y la nutrición, se ha analizado el efecto de diversas manipulaciones nutritivas sobre ambos tipos de conductas, tanto de autoestimulación como de escape. Se ha comprobado que tanto la alimentación espontánea como la administración intragástrica de nutrientes induce una fuerte reducción de las conductas de AEIC, incluso hasta eliminarlas, mientras que los índices de escape se incrementan (Hoebel & Thompson, 1969).

Más aún, la administración de insulina suele incrementar las respuestas de escape a la vez que reduce las conductas de AEIC, lo cual es consistente con el efecto favorecedor de la privación alimenticia sobre la conducta de autoestimulación (Carr & Wolinsky, 1993; Carr & Papadouka, 1994; Carr, 2002).

La obesidad, por su parte, reduce la autoestimulación e incrementa las conductas de escape. Así, tras inducir obesidad en los animales, la autoestimulación se redujo en una tercera parte, mientras que las conductas de escape se multiplicaron por tres (Hoebel & Thompson, 1969). Cuando la ingesta alimenticia obligatoria terminó, se observó en algunos casos un brusco incremento de la autoestimulación, quizá debido a la eliminación de la distensión gastrointestinal o los factores de saciedad a corto plazo, mientras que cuando esta ingesta excesiva se limitó gradualmente, de manera que el peso se redujo también gradualmente, el incremento en la autoestimulación y la reducción de las conductas de escape también fueron graduales hasta alcanzar el nivel normal (Hoebel & Thompson, 1969). Probablemente, los correlatos fisiológicos de una ingesta alimenticia excesiva y la consecuente ganancia de peso hicieron que la

autoestimulación hipotalámica lateral se volviera progresivamente menos recompensante y más aversiva. Por otra parte, cuando las variables fisiológicas recuperaron sus niveles normales, también lo hicieron la recompensa y la aversión inducidas mediante estimulación eléctrica intracerebral.

Esta influencia de los factores fisiológicos nutritivos sugiere que los fármacos que suprimen el apetito también deberían reducir la autoestimulación e incrementar el escape. Sin embargo, las anfetaminas no sólo no reducen la AEIC sino que la incrementan (Stein, 1969, citado en Hoebel, 1976; Clarke & Kumar, 1984; Gallistel & Karras, 1984), si bien es cierto que se trata de un fármaco con múltiples efectos colaterales de índole excitatoria. La frenalpropranolamina, un análogo de las anfetaminas aunque con menos efectos activadores pero que también suprime el apetito, reduce la ingesta alimenticia inducida mediante estimulación, pero no la ingesta de agua (Hoebel, Hernández & Thompson, 1975). Este fármaco sí provoca una reducción de las conductas de autoestimulación inducidas por estimulación eléctrica del hipotálamo lateral (McClelland et al., 1989; 1991).

En otros ámbitos comportamentales, la estimulación eléctrica del hipotálamo posterior induce conductas copulatorias y respuestas de AEIC, aunque también en algunas ocasiones, es posible desarrollar en los animales conductas de escape (Caggiula, 1970; Hoebel, 1976).

La castración de los animales reduce la AEIC de áreas hipotalámicas tanto posteriores como laterales. En estos animales, la reinstauración de los niveles normales de testosterona también reinstaura la frecuencia autoestimuladora (Caggiula, 1970), algo que también sucede con niveles elevados de testosterona que incrementan la autoestimulación. La relación entre AEIC y cópula es recíproca: la estimulación incrementa la cópula, y la cópula incrementa las conductas de autoestimulación.

Tras la eyaculación del animal, se reduce la frecuencia de autoestimulación. Por el contrario, durante el periodo de descanso y recuperación, las respuestas de escape se incrementan ligeramente a pesar de la letargia del animal (Hoebel et al., 1974, citado en Hoebel, 1976).

4. CIRCUITOS CEREBRALES IMPLICADOS EN LA AUTOESTIMULACIÓN ELÉCTRICA INTRACEREBRAL (AEIC).

Los niveles más altos de ejecución y preferencia en AEIC parecen estar asociados a las localizaciones anatómicas que forman parte del Haz Prosencefálico Medial (Lorens, 1976; Koob & LeMoal, 2006), una red de fibras nerviosas ascendentes y descendentes que discurren a lo largo del eje rostro-caudal desde el mesencéfalo hasta el prosencéfalo más rostral (Old & Forbes, 1981; Phillips & Fibiger, 1989; Wise & Rompré, 1989; Gallistel et al., 1996; Robbins & Everitt, 1999; Arvanitogiannis et al., 2000; Koob & LeMoal, 2006). En su trayectoria desde el tronco cerebral hasta sus proyecciones diencefálicas y telencefálicas, este haz contiene axones ascendentes dopaminérgicos, noradrenérgicos y serotoninérgicos, entre otros. Sin embargo, la vía dopaminérgica mesolímbica, integrada en este haz, es la que ha recibido mayor atención tanto en los estudios experimentales como en las reflexiones teóricas.

La delimitación anatómica de los circuitos implicados en AEIC ha sido posible gracias a una combinación de procedimientos y técnicas. Así, los estudios de cartografía/mapeado cerebral han ido identificando sucesivamente las distintas estructuras localizadas a lo largo de la franja comprendida entre el prosencéfalo basal y el tronco cerebral:

En posiciones anteriores, las zonas más consistentemente asociadas con AEIC incluyen los bulbos olfatorios, corteza prefrontal, amígdala e hipocampo, y una región comprendida entre el globo pálido y el núcleo accumbens (Deutsch & Deutsch, 1973; Van der Kooy et al., 1977; Olds & Fobes, 1981; Wise & Rompré, 1989; Gallistel et al., 1996; Robbins & Everitt, 1999; Kandel et al., 2001).

No obstante, como se indicaba anteriormente, es a lo largo del Haz Prosencefálico Medial donde se han encontrado tasas más altas de respuesta y los umbrales más bajos de AEIC. Sus límites se extienden ventralmente desde la zona incierta hasta la base del cerebro y lateralmente desde el fórnix a la parte medial de la cápsula interna (Routtenberg, 1976; Wise & Rompré, 1989; Gallistel et al., 1996; Kandel, et al., 2001).

En áreas posteriores del tronco cerebral, se ha puesto de manifiesto también este efecto reforzador en una zona comprendida entre el acueducto cerebral y el núcleo interpeduncular, que se continúa en regiones de la parte dorsal de la sustancia gris central y porción ventral del tegmento (incluyendo la sustancia negra y el área tegmental ventral). Por último, se ha descrito

AEIC en los núcleos pontinos, sobre todo en la parte ventral del núcleo dorsal del rafé, cerca del locus coeruleus, núcleo tegmental pedúnculo pontino y región parabraquial medial (Routtenberg, 1976; Wise & Rompré, 1989; Gallistel et al., 1996; Arvanitogiannis et al., 1997; Kandel et al., 2001; Nakahara et al., 2001), además de en el núcleo del tracto solitario, núcleo motor del trigémino y núcleos profundos del cerebelo (Routtenberg, 1976; Wise & Rompré, 1989).

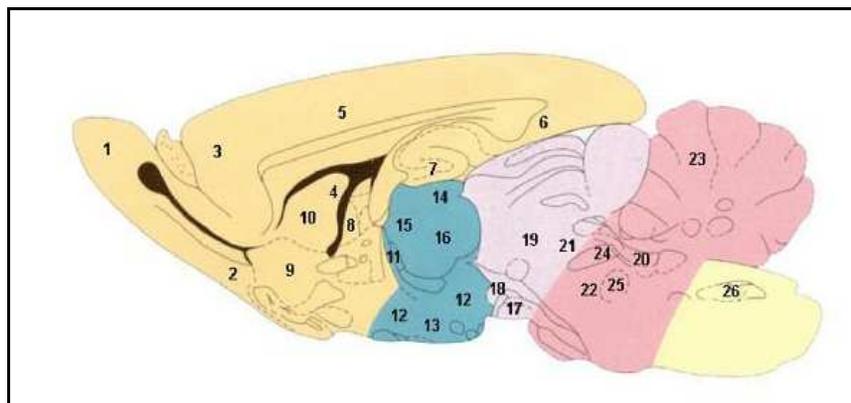


Figura 2. Representación esquemática de las diferentes localizaciones anatómicas en las que se puede obtener autoestimulación eléctrica intracerebral en el cerebro de la rata. TELENCEFALO: 1. Bulbo olfatorio; 2. Corteza prepiriforme; 3. Corteza prefrontal medial; 4. Órgano subfornical; 5. Corteza cingulada; 6. Corteza entorrinal; 7. Hipocampo; 8. Séptum; 9. Núcleo Accumbens; 10. Caudado-Putamen. DIENCEFALO: 11. Fórnix; 12. Hipotálamo Lateral; 13. Hipotálamo ventromedial; 14. Núcleo mediodorsal del tálamo; 15. Núcleo parietal del tálamo; 16. Núcleo central del tálamo. MESENCEFALO: 17. Sustancia Negra; 18. Área Tegmental Ventral; 19. Sustancia gris periacueductal; 20. Núcleo mesencefálico del Nervio Trigémino; 21. Rafé dorsal; 22. Rafé medial. METENCEFALO: 23. Cerebelo; 24. Pedúnculo cerebeloso superior; 25. Núcleo motor del nervio trigémino. MIELENCEFALO: 26. Núcleo del Tracto Solitario. Figura adaptada de Phillips y Fibiger (1989).

En resumen, los estudios de cartografía/mapeado cerebral muestran un alto grado de coincidencia entre los núcleos cerebrales que sostienen comportamientos de AEIC y el Haz Prosencefálico Medial. Sin embargo, aunque las lesiones efectuadas en el Haz Prosencefálico Medial apenas producen deterioro, o producen un deterioro sólo temporal, cuando son realizadas en zonas anteriores al hipotálamo lateral –localización desde donde se estaría estimulando-, no ocurre lo mismo cuando las intervenciones se llevan a cabo en posiciones posteriores a la localización del electrodo en el hipotálamo lateral. Ahora, suelen producir importantes deterioros de la AEIC, lo cual ha sido interpretado como prueba de que los impulsos generados en esta vía siguen una ruta descendente (Deutsch & Deutsch, 1973; Lorens, 1976; Stiglick & White, 1977; Stellar & Neeley, 1982). Sin embargo, las lesiones realizadas en otras estructuras también

pueden afectar a la AEIC, por ejemplo, las efectuadas en algunos núcleos límbicos que pueden originar un cierto deterioro en la AEIC, si bien este efecto suele ser temporal (Deustch & Deustch, 1973).

5. CIRCUITOS CEREBRALES IMPLICADOS EN LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA INTRACEREBRAL DE ÍNDOLE AVERSIVA.

El hipotálamo medial, la amígdala, la sustancia gris central - o zona periacueductal gris - y la sustancia negra constituyen los principales sustratos neuroanatómicos para la inducción de estados aversivos en el cerebro. Recientemente, algunas regiones mesencefálicas, como los colículos superiores e inferiores, han sido consideradas como parte también de este sistema cerebral de procesamiento aversivo. Todas estas estructuras mencionadas suelen activarse tras la estimulación eléctrica o química de la parte dorsal de la sustancia negra o el hipotálamo medial, o al exponer a los animales a estimulación ambiental aversiva (Sandner et al., 1992; Silveira et al., 1993; 1995; 2001; Brandao et al., 1999; 2003; Osaki et al., 2003).

Dentro de este sistema cerebral, se ha propuesto que cada estructura estaría particularmente implicada en unos u otros de los componentes de la reacción defensiva. Así, por ejemplo, las lesiones de las láminas profundas del colículo superior reducen las respuestas defensivas a estímulos visuales amenazantes, como por ejemplo, un movimiento inesperado, por lo que se ha propuesto que estarían implicados en el control de los movimientos de orientación oculares y de la cabeza (Blanchard et al., 1981; Brandao et al., 2003). Por su parte, las neuronas del colículo inferior actuarían como filtro de los sonidos que requieren una acción inmediata, como podría ser el ruido originado por un depredador o una presa (Masterton, 1992; Brandao et al., 1999; 2003). La sustancia negra participa en la expresión de funciones cerebrales relacionadas con la reacción defensiva, como serían el procesamiento nociceptivo, las vocalizaciones, la regulación autonómica, el miedo, la ansiedad o la lordosis (Behbehani, 1995; Brandao et al., 1999; 2003).

Otras estructuras neuroanatómicas que han sido menos relacionadas con este sistema, pero cuya estimulación también induce conductas aversivas y de escape, son el núcleo reticular gigantocelular (Carr & Coons, 1982; Carr et al., 1982; Anderson et al., 1995; Diotte et al., 2000; 2001), la región locomotora mesencefálica, que incluye el núcleo cuneiforme y el núcleo

tegmental pedúnculo pontino (Depoortere et al., 1990a; 1990b), el tegmento dorsal (Diotte et al., 2001) o la formación reticular ventral (Kiser et al., 1978a; 1978b).

6. FARMACOLOGÍA DE LA AUTOESTIMULACIÓN ELÉCTRICA INTRACEREBRAL.

Dada la complejidad del circuito neural subyacente a la conducta de autoestimulación, no resulta sorprendente que se hayan descrito múltiples sistemas farmacológicos en función del área cerebral activada (Lorens, 1976; Phillips et al., 1976; Schaefer & Michael, 1983; Singh et al., 1997a; 1997b).

Norepinefrina

Mediante técnicas de Histología Fluorescente, que han permitido identificar la distribución anatómica de las vías catecolaminérgicas, se ha podido constatar la existencia de una importante coincidencia entre estas vías neuroquímicas y las zonas en donde la estimulación resulta reforzante (Crow, 1976; Wise & Rompré, 1989; Baucó & Wise, 1994; Salamone et al., 1997; Sokolowski et al., 1998).

A través del empleo de neurotoxinas selectivas se han podido llevar a cabo lesiones específicas de las neuronas que utilizan un tipo u otro de neurotransmisor. Así, se ha comprobado que la destrucción de las terminales catecolaminérgicas suele causar reducciones moderadas en la tasa de AEIC, lo cual sugiere una posible participación de estos sistemas neuroquímicos en los procesos de AEIC, si bien los resultados pueden variar según la estructura estudiada (Phillips et al., 1975; Stephens & Herberg, 1975; Clavier, 1976), lo que hace muy complicado el análisis.

Una de las primeras hipótesis propuestas en relación a las bases farmacológicas de la AEIC, evocada desde áreas del Haz Proencefálico Medial, ha implicado al sistema noradrenérgico (Stellar & Rice, 1989) y, concretamente, a los haces noradrenérgicos dorsal y ventral (Clavier, 1976). Los datos experimentales posteriores venían a sugerir, sin embargo, que los mecanismos noradrenérgicos podrían estar relacionados más con la activación fisiológica necesaria para llevar a cabo la tarea que con los propios procesos de recompensa. En este sentido, el FLA-63, un inhibidor de la dopamina- β -hidroxilasa, con efectos motores menores que los utilizados hasta entonces, no conseguía reducir las conductas de autoestimulación (Lippa et

al., 1973). Más aún, la administración de fenoxibenzamina, un antagonista de los receptores α , mostró que el bloqueo noradrenérgico no impedía la recompensa autoestimuladora, algo que sí se lograba mediante el bloqueo dopaminérgico (Crow, 1976; Fouriezos & Wise, 1976; Fouriezos et al., 1978).

Más aún, los estudios realizados con técnicas lesivas han revelado que la destrucción de las células noradrenérgicas mediante la administración de 6-OHDA en el prosencéfalo no impide las conductas de autoestimulación (Cooper et al., 1974). Asimismo, la AEIC del locus coeruleus, el lugar de origen de los haces dorsales, tampoco se ve afectada por su destrucción mediante neurotoxinas (Clavier, 1976; Crow, 1976), lo cual ha permitido proponer, de manera alternativa, que la AEIC del locus coeruleus pueda depender de una mediación dopaminérgica indirecta (Clavier, 1976). De hecho, se ha comprobado que tres de las principales vías dopaminérgicas - mesocortical, mesolímbica y nigroestriada- se incluyen entre las fibras del Haz Prosencefálico Medial (Weiner & Molinoff, 1994). Todos estos resultados sugieren que la AEIC parece depender de la activación de neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo ventral y menos probablemente de las neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus, ya que la integridad de la transmisión dopaminérgica parece ser necesaria para que se produzca AEIC en las regiones noradrenérgicas, pero no al revés (Crow, 1976; Fouriezos et al., 1978).

En resumen, ya desde el principio las hipótesis que relacionaban el fenómeno de la AEIC con el sistema dopaminérgico se vieron apoyados por datos que indicaban que los antagonistas dopaminérgicos predecían mejor que el punto de vista noradrenérgico la potencia de los neurolépticos para interferir con la recompensa (Gallistel & Davis, 1983). En la actualidad, la evidencia experimental disponible sugiere que la Noradrenalina no sería el principal sustrato neuroquímico de la recompensa autoestimuladora, si bien se ha sugerido que puede tener un papel modulador (Stellar & Rice, 1989).

Dopamina

Dada la notable coincidencia existente entre las vías anatómicas dopaminérgicas y las áreas cerebrales capaces de sustentar conductas de autoestimulación (Weiner & Molinoff, 1994), la implicación del sistema dopaminérgico en este fenómeno ha sido muy apoyada experimentalmente. Así, muchos estudios, como se mencionaba más arriba, han comprobado que la administración sistémica de neurolépticos reduce la recompensa inducida mediante

estimulación eléctrica del Haz Prosencefálico Medial, si bien no pueden olvidarse los importantes déficits motores o de ejecución que generan este conjunto de fármacos (Zarevics & Setler, 1979; Ettenberg & White, 1981; Fenton & Liebman, 1982; Gallistel & Karras, 1984; Hamilton et al., 1985; Benaliouad et al., 2007).

En este sentido, se ha investigado la relevancia de los diferentes receptores dopaminérgicos en la recompensa cerebral inducida por estimulación eléctrica intracerebral. Una mayoría de los estudios sugiere que los receptores D2 pueden ser los más implicados en la recompensa inducida por estimulación eléctrica del Haz Prosencefálico Medial (Gallistel & Davis, 1983; Hamilton et al., 1985). Otros resultados, sin embargo, destacan la relevancia de los receptores D1 en este tipo de recompensa, tanto la inducida desde el Haz Prosencefálico Medial como la generada en el córtex frontal (Ferrer et al., 1983; Nakajima & McKenzie, 1986; Singh et al., 1997a).

Agonistas dopaminérgicos indirectos, como las anfetaminas o la cocaína, reducen el umbral de inducción de la AEIC (Franklin & Robertson, 1980; Kornetsky & Esposito, 1981; Gallister & Karras, 1984; Reid et al., 1993; 1996; Tomasiwicz et al., 2008; Todtenkopf et al., 2009; Hernández et al., 2010; Straub, Carlezon & Rudolph, 2010), sin alterar los umbrales de detección de la estimulación cerebral (Kornetsky & Esposito, 1981; Schaefer & Michael, 1985b). En otras palabras, estos fármacos parecen actuar sobre las propiedades reforzantes de la estimulación eléctrica intracerebral, sin ejercer efecto alguno sobre sus propiedades discriminativas.

En general, puede afirmarse que el sistema dopaminérgico juega un papel esencial en la recompensa inducida mediante estimulación eléctrica del Haz Prosencefálico Medial, si bien no puede descartarse una posible implicación de efectos colaterales de carácter motor.

Aunque la mayoría de los estudios se han centrado en la vía dopaminérgica mesolímbica, existen neuronas que sinaptan en el ATV con vías no dopaminérgicas que también proyectan al núcleo accumbens (Swanson, 1982). Estos datos han dado lugar a una propuesta según la cual la dopamina no debería ser considerada como la señal de recompensa, sino que esta señal se procesaría a través de vías no dopaminérgicas, si bien sería modulada por la dopamina del núcleo accumbens (Stellar & Rice, 1989). Esta alternativa contrasta con la hipótesis inicial (representada gráficamente en la parte A de la figura 3), más simple, según la cual la estimulación del haz prosencefálico medial activaría fibras que proyectan rostro-caudalmente hacia el ATV, desde donde surgirían las proyecciones ascendentes hasta el núcleo

accumbens. En este primer modelo, se considera que la dopamina es el sustrato neurobiológico de la señal de recompensa. Sin embargo, según la hipótesis mencionada al principio (B en la figura 3), las fibras activadas directamente por el electrodo enviarían su señal rostro-caudalmente al ATV, pero esta señal de recompensa podría seguir una ruta alternativa hasta alcanzar el núcleo accumbens. Esta ruta alternativa no está bien establecida, pero la estimulación puede activar neuronas no-dopaminérgicas del ATV que proyectan directamente al núcleo accumbens (Swanson, 1982) o incluso activar la amígdala, que dispone de proyecciones dirigidas también al núcleo accumbens (Kelley et al., 1982; Phillips, Ahn & Howland, 2003). En cualquier caso, lo más relevante de este nuevo modelo sería la alternativa de que la señal de recompensa puede ser enviada a través de vías no dopaminérgicas, unas vías que podrían ser moduladas, de alguna manera, por la dopamina existente en el núcleo accumbens.

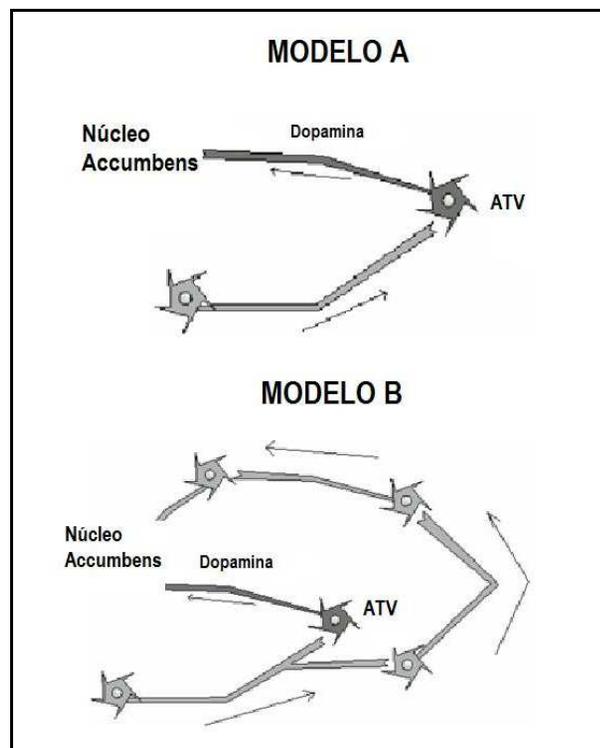


Figura 3. Representación gráfica de las dos hipótesis sobre la función de la dopamina en la recompensa inducida mediante estimulación eléctrica del Haz Prosencefálico Medial. A. Modelo según el cual la señal de recompensa es conducida a través de las neuronas dopaminérgicas. B. Un segundo modelo, algo más complejo, en el que se considera que la función de la dopamina sería moduladora, y en el que la señal de recompensa propiamente dicha no sería dopaminérgica. La vía anatómica y el número de sinapsis del modelo B no son conocidos. Figura adaptada de Stellar y Rice (1989).

A través de la estimación de los períodos refractarios se ha podido caracterizar a las células y fibras del Haz Prosencefálico Medial. Así, se ha llegado a la conclusión de que la AEIC actúa despolarizando fibras mielinizadas que transcurren en dirección rostrocaudal (Bielajew & Shitzgal, 1986, citado por Wise, 1998; Wise & Rompré, 1989; Gallistel et al., 1996; Wise, 2000). Por su parte, las supuestas fibras dopaminérgicas relevantes para el refuerzo –vía Mesolímbica– proyectan, en dirección rostral hacia el Núcleo Accumbens y tienen velocidades de conducción lentas así como períodos refractarios largos, con un elevado umbral para la activación directa (Gallistel, 1983), y que podrían ser activadas indirecta y trans-sinápticamente mediante conexiones axodendríticas y axosomáticas del Haz Prosencefálico Medial en el Área Tegmental Ventral o incluso en localizaciones más caudales (Wise, 1996; 1998).

Algunos de los axones descendentes del Fascículo Prosencefálico Medial, mencionado más arriba, proyectan no sólo al mesencéfalo sino también hacia localizaciones más caudales. Podrían también actuar activando indirectamente neuronas de la Vía Mesolímbica a través de conexiones colinérgicas desde la Zona Pedunculopontina (núcleo tegmental pedúnculo pontino y núcleo tegmental laterodorsal) hacia el ATV, tal y como han propuesto algunos autores, basándose en la repercusión que tiene sobre la conducta de AEIC el bloqueo farmacológico de los receptores de acetilcolina en el núcleo tegmental pedúnculo pontino (Yeomans et al., 1993; Yeomans & Baptista, 1997; Wise, 1998).

Péptidos opiáceos

Existen altos niveles de opiáceos en el ATV, desde donde podrían activar células dopaminérgicas, posiblemente mediante la desinhibición GABAérgica o de mecanismos autorreceptores dopaminérgicos (Kelley et al., 1980). Vista la importancia otorgada al sistema dopaminérgico en la conducta de autoestimulación, no es sorprendente que la AEIC pueda ser incrementada mediante la inyección de opiáceos en el ATV (Broekkamp & Phillips, 1979; Singh et al., 1994). Sin embargo, la administración sistémica de opiáceos causa una reducción inicial dosis-dependiente en la conducta de autoestimulación, seguida por un incremento (Lorens, 1976; Hand & Franklin, 1985; Duvauchelle et al., 1996; 1997). Es más, este efecto facilitador de los opiáceos sobre la conducta de autoestimulación puede ser bloqueado mediante antagonistas dopaminérgicos (Ettenberg & Duvauchelle, 1988; Duvauchelle et al., 1996). Sin embargo, el efecto de los antagonistas kappa sobre la autoestimulación es contradictorio, e igual sucede con los diferentes agonistas kappa que a veces presentan efectos opuestos (Singh et al., 1994;

Todtenkopf et al., 2004), si bien en estos estudios se utilizan frecuentemente procedimientos muy diferentes.

Por otra parte, los estudios que examinan el desplazamiento de la curva dosis-respuesta, indican un incremento en la recompensa con bajas dosis de morfina (2.5 a 5 mg./kg), mientras que dosis más altas (10mg./kg.) provocan un incremento en el umbral o, lo que es lo mismo, una reducción de la recompensa (Glick et al., 1982; Van Wolfswinkel, Seifert & Van Ree, 1985). En este sentido, la abstinencia opiácea provocada mediante la administración de naloxona produce un incremento en los umbrales de AEIC (Schaefer & Michael, 1986). Más aún, en muchas ocasiones la simple administración de naloxona puede por sí misma incrementar el umbral de autoestimulación y reducir la respuesta de AEIC (Ichitani et al., 1985; Schaefer & Michael, 1985a; 1988; Van Wolfswinkel & Van Ree, 1985; Easterling & Holtzman, 2004).

También la administración de otros péptidos, como la somatostatina y la neurotensina, han provocado una reducción en la AEIC del Haz Proencefálico Medial (Singh et al., 1997b).

GABA y benzodiazepinas

Los antagonistas GABA, sistémicamente administrados, como la bicuculina y la picrotoxina, producen una reducción de la AEIC (Kent & Fedinets, 1976) y, en el caso de la última, se provoca un incremento en el umbral de AEIC (Zarevics & Setler, 1981). En otros casos se ha observado también que la administración sistémica de agonistas GABA puede reducir la recompensa inducida por AEIC (Zarevics & Setler, 1981), lo cual ha hecho pensar que en algunos de estos casos puede que los fármacos GABAérgicos no estén actuando directamente sobre los receptores GABA (Stellar & Rice, 1989).

Por otra parte, los resultados obtenidos con diazepam y otros ansiolíticos sugieren que este tipo de sustancias reducen la aversión que a veces se asocia a la estimulación del Haz Proencefálico Medial (Panksepp et al., 1970; Gerhardt & Liebman, 1981; Gerhardt et al., 1982; Stellar & Rice, 1989), facilitando así la recompensa derivada de la AEIC (Ichitani et al., 1985). De esta manera, es posible que los fármacos que atenúan el impacto aversivo de la AEIC puedan causar un aparente incremento en las medidas comportamentales de recompensa.

Finalmente se han descrito efectos tanto facilitadores como inhibitorios de la AEIC en el caso del etanol (Carlson & Lydic, 1976; Lorens & Sainati, 1978) y de los barbitúricos (Stellar & Rice, 1989).

Acetilcolina

En cuanto a la participación de la acetilcolina en la AEIC (Yeomans & Baptista, 1997), algunos resultados sugieren que la activación muscarínica inhibe la conducta de autoestimulación mientras que, por el contrario, la nicotínica parece incrementarla (Newman, 1972; Stellar & Rice, 1989; Chen et al., 2006).

Serotonina

El estudio de la implicación del sistema serotoninérgico en la AEIC ha revelado que ésta puede depender en gran medida de la región cerebral que se haya activado eléctricamente (Stellar & Rice, 1989). Así, la administración de PCPA, un inhibidor de la síntesis de serotonina, o las lesiones neurotóxicas serotoninérgicas, incrementan la AEIC en algunos estudios (Gibson et al., 1970; Poschel et al., 1974) y la reducen en otros (Phillips et al., 1976; Miliaressis, 1977; Van der Kooy et al., 1977; 1978). La AEIC en los núcleos del rafé medial (Miliaressis, 1977) y dorsal (Van der Kooy et al., 1978), en el hipocampo (Van der Kooy et al., 1977) y en el núcleo caudado (Phillips et al., 1976) puede verse deteriorada tras la administración de PCPA.

Drogas de abuso

En general, los resultados obtenidos en los estudios neurofarmacológicos apuntan a que las sustancias con potencial de abuso reducen el umbral de autoestimulación o facilitan la conducta de autoestimulación, como es el caso de la morfina (Glick et al., 1982; Van Wolfswinkel, Seifert & Van Ree, 1985; Easterling et al., 2000) y diversos agonistas opiáceos (Singh et al., 1994), MDMA / éxtasis (Reid et al., 1996), anfetamina (Franklin & Robertson, 1980; Gallistel & Karras, 1984), cocaína (Reid et al., 1993; Tomasiewicz et al., 2008; Hernández et al., 2010; Straub et al., 2010), nicotina (Clarke & Kumar, 1984; Yeomans & Baptista, 1997), cafeína (Mumford et al., 1988), etc., al tiempo que se observa una interesante correlación entre la capacidad de la droga para reducir los umbrales de autoestimulación y su potencial de abuso

(Kucharski et al., 1983; Koob & LeMoal, 2006). Este efecto sinérgico de las drogas de abuso sobre la AEIC podría sugerir que las drogas adictivas y la AEIC activan circuitos de refuerzo cerebral comunes.

7. FARMACOLOGÍA DE LA CONDUCTA AVERSIVA Y LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA INTRACEREBRAL AVERSIVA.

Dopamina

El estudio de la implicación dopaminérgica en los sistemas cerebrales de la aversión se ha centrado en regiones cerebrales relacionadas particularmente con la vía dopaminérgica mesolímbica, esto es en el ATV, el núcleo accumbens y el cortex prefrontal, y utilizan principalmente tareas comportamentales de evitación (Cooper et al., 1974; Neill et al., 1974; Sanger, 1987; Wadenberg et al., 1990; White et al., 1992; McCullough et al., 1993; Smith et al., 2002).

En este sentido, diversos estudios han revelado que la administración de fármacos neurolépticos genera importantes déficits en conductas instrumentales de evitación activa (White et al., 1992; McCullough et al., 1993; Smith et al., 2002) y de escape (Sanger, 1987). Sin embargo, estos datos deben ser tomados con cautela, pues existe la posibilidad de que los antagonistas dopaminérgicos puedan provocar un incremento de las conductas de inmovilidad que interferirían con la ejecución en este tipo de tareas (Blackburn & Phillips, 1990). En cualquier caso, se ha demostrado que las lesiones de las neuronas dopaminérgicas inducida mediante la administración de 6-OHDA (en regiones como el núcleo estriado) deterioran el aprendizaje de evitación activa (Cooper et al., 1974; Neill et al., 1974; Wadenberg et al., 1990).

Por otra parte, diversos estudios han comprobado que una gran variedad de condiciones aversivas o estresantes pueden incrementar la liberación de DA en diversas áreas cerebrales, así como su metabolismo (Salamone, 1994). Gran parte de la evidencia acumulada en este sentido se ha obtenido mediante la utilización de técnicas como registros electrofisiológicos. Así, por ejemplo, D'Angio y colaboradores (1987) detectaron un incremento en los niveles de dopamina al someter a los animales a manipulaciones tales como el simple pinzamiento de la cola. Por otra parte, también se han constatado cambios en la actividad dopaminérgica en respuesta a estímulos auditivos (Guarraci & Kapp, 1999) y olfatorios (Besson & Louilot, 1997;

Louilot & Besson, 2000) aversivamente condicionados, así como en respuesta a estímulos “salientes” no recompensantes (Horvitz et al, 1997; Horvitz, 2000).

A través de la utilización de técnicas de microdiálisis y detección de metabolitos se ha destacado también la participación dopaminérgica en el procesamiento aversivo (Salamone, 1994). Así, se han detectado incrementos dopaminérgicos en distintas localizaciones cerebrales en respuesta a estímulos estresantes como el pinzamiento de la cola (Cenci et al., 1992; Di Chiara et al., 1999), la inmovilización (Imperato et al., 1992; Doherty & Gratton, 1997), el *handling* (manipulación de los animales) prolongado (Cenci et al., 1992; Fuchs et al., 2005), la administración de fármacos ansiogénicos (McCulloug & Salamone, 1992), la inmersión (Young et al., 2005), la administración de corriente eléctrica de índole aversiva (Thierry et al., 1976; Deutch et al., 1985; Kalivas & Abhold, 1987; Inoue et al, 1994; Wilkinson et al., 1998) y en respuesta a estímulos aversivamente condicionados (Deutch et al., 1985). Así pues, tomando en conjunto los resultados de estos estudios se puede concluir que la magnitud del incremento dopaminérgico depende de la severidad del estímulo aversivo aplicado (Salamone, 1994).

Por otra parte, también existen pruebas experimentales que relacionan al sistema dopaminérgico con el aprendizaje aversivo gustativo. Por ejemplo, diversos estudios han demostrado que la administración de 6-OHDA dificulta el desarrollo de condicionamiento aversivo gustativo (Lorden et al., 1980; Reilly & Trifunovic, 2000b). Estudios más recientes han asociado los receptores D1 y D2 con la participación dopaminérgica en el aprendizaje aversivo gustativo (Fenu et al., 2001; 2005).

También se ha puesto de manifiesto la implicación de este sistema de neurotransmisión en el llamado condicionamiento de aversiones hacia un lugar, ya que la administración de haloperidol reduce significativamente la aversión espacial inducida experimentalmente mediante la administración de fármacos ansiógenos (Di Scala & Sandner, 1989).

En seres humanos y mediante técnicas de RMf, se ha demostrado la implicación dopaminérgica en el procesamiento aversivo y, más concretamente, durante la anticipación de un evento molesto (Jensen et al., 2003).

Por último, se ha observado una mayor liberación de DA en el núcleo accumbens durante las conductas de escape inducidas mediante estimulación eléctrica hipotalámica, liberación que, sin embargo, no ocurre cuando se impide el escape (Rada et al., 1998). Es más, recientemente se ha demostrado que las neuronas dopaminérgicas situadas en el área dorsal del ATV podrían estar implicadas en el procesamiento de la recompensa mientras que las del área ventral podrían dedicarse al procesamiento de estímulos aversivos, lo cual sugiere que el ATV podría incluir dos sistemas dopaminérgicos anatómica y funcionalmente diferentes

(Brischoux et al., 2009). A la luz de estos nuevos resultados, se ha propuesto que la liberación dopaminérgica posterior al consumo de drogas de abuso podría estar relacionada con una reacción aversiva a estas sustancias tóxicas (Schmidt et al., 2009). Desde esta nueva propuesta, sería relevante determinar las áreas cerebrales dopaminérgicas implicadas en el procesamiento de estímulos aversivos y su coincidencia o diferenciación anatómica con respecto a áreas implicadas en el procesamiento de la recompensa.

En resumen, la bibliografía disponible nos ofrece una gran uniformidad experimental en este campo, destacando una clara implicación del sistema dopaminérgico en el procesamiento aversivo, aunque apenas existen estudios que hayan analizado la implicación de la dopamina en los procesos de estimulación eléctrica intracerebral aversiva. Sólo se dispone de algunos estudios que han demostrado que la estimulación eléctrica aversiva de los colículos inferiores induce un incremento significativo de la dopamina extracelular en el núcleo basolateral de la amígdala y en el córtex frontal (Macedo et al., 2005a; 2005b).

Opiáceos

Existen pruebas experimentales que sugieren que los opiáceos pueden ejercer un papel modulador en el sistema cerebral de la aversión (Brandao et al., 1999; Coimbra et al., 2000). Así, se ha comprobado que microinyecciones de dosis bajas de morfina en la sustancia gris central inhiben de manera dosis-dependiente las consecuencias aversivas de su estimulación (Jenck et al., 1983; 1986), mientras que la utilización de dosis más altas induce activación conductual y conductas de escape, una reacción muy similar a la observada tras la estimulación eléctrica de esta área anatómica o la administración de antagonistas GABA (Motta & Brandao, 1993).

Es más, al examinar los receptores opiáceos que podrían estar implicados en este efecto aversivo inducido por las dosis altas de morfina, se ha puesto de manifiesto que este efecto puede ser inducido tanto mediante la administración de antagonistas μ como de agonistas kappa (Motta & Brandao, 1993; Motta et al., 1995; Sante, Nobre & Brandao, 2000). Esta interpretación es consistente con el papel atribuido a cada uno de estos receptores opiáceos en el procesamiento aversivo, a saber, mientras que los agonistas de los receptores μ suelen causar efectos antiaversivos, los agonistas κ provocan estados aversivos (Shippenberg & Herz, 1987; Shippenberg et al., 1988c; Mansour et al., 1995).

Por su parte, la naloxona, administrada tanto periférica como centralmente, incrementa los umbrales de las conductas de inmovilidad y de lucha inducidas mediante la estimulación eléctrica del colículo inferior (Coimbra et al., 2000). Igualmente, antagonistas tanto mu como kappa también consiguen incrementar el umbral para conductas defensivas y de escape inducidas mediante la estimulación eléctrica de esta misma estructura cerebral (Osaki et al., 2003).

Se ha comprobado también que la administración de dosis bajas de agonistas mu y kappa también elevan los umbrales de escape, inhibiendo la aversión inducida por estimulación del núcleo reticular gigantocelular, efecto que puede anularse utilizando naloxona (Carr et al., 1982).

Neuropéptidos no opiáceos

La implicación de los neuropéptidos en el procesamiento de la reacción defensiva no ha sido muy estudiada, aunque existen datos de que la administración de sustancia P induce efectos aversivos (Hall et al., 1987), un neuropéptido que, por otra parte, ha sido localizado en la sustancia gris central (Skirboll et al., 1983; Sandner et al., 1992; Motta & Brandao, 1993; Motta et al., 1995).

También la colecistoquinina (CCK) está presente en la sustancia gris central (Skirboll et al., 1983; Rattray et al., 1992) y podría estar implicada en funciones relacionadas con la aversión inducida mediante estimulación eléctrica. De hecho, estudios en seres humanos demuestran que la administración de agonistas CCK provoca estados de pánico (Flint et al., 1998), con manifestaciones comportamentales similares a las de la estimulación eléctrica aversiva.

GABA y benzodiazepinas

La administración de benzodiazepinas en el mesencéfalo dorsal suprime las conductas de escape inducidas mediante estimulación eléctrica intracerebral (Bovier et al., 1982; Brandao et al., 1982; Depoortere et al., 1990a; Gomita et al., 1991; 2003; Melo et al., 1992). Asimismo, existen pruebas que han puesto de manifiesto una interacción entre el efecto anti-aversivo de las benzodiazepinas y el sistema GABAérgico en el mesencéfalo dorsal. De hecho, las microinyecciones de agonistas GABA en esta región tienen efectos similares a los observados con los tranquilizantes menores (Bovier et al., 1982; Pandossio & Brandao, 1999), mientras que el efecto de los antagonistas GABA, como bicuculina y picrotoxina, inducen conductas de lucha

y respuestas autonómicas características de las reacciones defensivas (Brandao et al., 1982), al tiempo que inhiben el efecto antinociceptivo de las benzodiazepinas (Gomita et al., 1991; 2003). Todos estos estudios concluyen que el incremento en la neurotransmisión GABAérgica en las estructuras del mesencéfalo causa efectos antiaversivos, mientras que el bloqueo de este sistema induce manifestaciones conductuales aversivas y neurovegetativas, lo cual sugiere que el sistema GABA-benzodiazepínico podría ejercer un efecto inhibitorio tónico en este sustrato neural de la aversión.

Acetilcolina

La presentación de estímulos gustativos aversivamente condicionados induce un incremento de la acetilcolina en el núcleo accumbens (Mark et al., 1995). Asimismo, la estimulación eléctrica de índole aversiva en el hipotálamo induce un incremento también de la acetilcolina en el núcleo accumbens de los animales motivados para escapar de dicha estimulación, un incremento que se anula al permitir a los animales ejecutar las conductas de escape (Domino et al., 1975; Rada & Hoebel, 2001). Este hecho, junto con el incremento de DA en este núcleo durante las conductas de escape, pero no cuando se impide el escape de la estimulación hipotalámica (Rada et al., 1998), ha llevado a estos autores a proponer la existencia de un sistema de balance dopaminérgico-acetilcolínico en el núcleo accumbens implicado en las conductas de evitación (Hoebel et al., 2007). Concretamente, Hoebel y colaboradores (2007) proponen funciones opuestas para la dopamina y la acetilcolina del núcleo accumbens en el control de los sistemas GABAérgicos relacionados con las conductas de aproximación-evitación. En oposición a la liberación de dopamina, que correlaciona con diversas conductas de aproximación (Garris et al., 1999; Kilpatrick et al., 2000; Phillips et al., 2003; Roitman et al., 2004a; Lecca et al., 2007a; b), la liberación de acetilcolina acompaña a la saciedad alimenticia, el aprendizaje aversivo gustativo y estimulación eléctrica intracerebral de índole aversiva (Domino et al., 1975; Rada & Hoebel, 2001; Avena, Rada & Hoebel, 2007). Asimismo, la acetilcolina puede contrarrestar las conductas de aproximación compulsivas mediadas por una excesiva liberación de dopamina, como ocurre durante la abstinencia de drogas de abuso y azúcar (Hoebel et al., 2007).

La dopamina en el núcleo accumbens estimula el apetito o, al menos, las conductas de búsqueda de alimento, mientras que los antagonistas dopaminérgicos provocan un breve incremento, seguido de una reducción gradual de este tipo de comportamientos (Wise et al.,

1978; Wise, 2006). Además, en animales con peso normal, el nivel de acetilcolina va aumentando en el núcleo accumbens a medida que la ingesta de alimento progresa, lo cual no ocurre si el animal está bajo peso (85% del peso normal), sugiriendo un papel central en el paso a un estado de saciedad (Hoebel et al., 2007).

Serotonina

Los mecanismos serotoninérgicos han recibido una gran atención en la bibliografía dedicada al estudio de las bases neurobiológicas del miedo. A nivel mesencefálico, el núcleo medial del rafe ha sido implicado en el control del miedo condicionado, mientras que el núcleo dorsal del rafe regula las respuestas incondicionadas originadas al aplicar estimulación eléctrica aversiva (Avanzi et al., 1998). Numerosos datos experimentales atribuyen a la 5-HT un papel inhibitorio sobre el miedo incondicionado. Así, la inhibición de la síntesis serotoninérgica facilita las respuestas de escape inducidas mediante estimulación, mientras que la administración de antagonistas serotoninérgicos acelera el ritmo al que el animal presiona el pedal para desconectar la estimulación de la sustancia gris central o los colículos inferiores (Kiser et al., 1978b; Clarke & File, 1982; Brandao et al., 1999; Maissonette et al., 2000). Por el contrario, la administración de 5-HT, agonistas, y bloqueadores de la recaptación inhiben el escape de la estimulación aversiva (Graeff et al., 1986; Melo & Brandao, 1995).

En relación con lo anterior, se ha propuesto un mecanismo serotoninérgico dual en algunas estructuras del sistema neurobiológico aversivo, de modo que, por ejemplo, la influencia serotoninérgica en el núcleo basolateral de la amígdala sería de naturaleza inhibitoria, mientras que sería excitatoria en el núcleo central (Macedo et al., 2002). Más aún, las lesiones del núcleo basolateral reducen los umbrales de la respuesta aversiva inducida por estimulación eléctrica del colículo inferior, mientras que las lesiones del núcleo central los incrementan (Maissonette et al., 1996).

Por otra parte, se ha demostrado que los bloqueadores serotoninérgicos inhiben también la analgesia inducida mediante estimulación eléctrica del colículo inferior y de la sustancia gris central (Akil & Liebeskind, 1975; Castilho et al., 1999). Asimismo, se ha podido diferenciar anatómicamente entre la región dorsal de la sustancia gris central, más relacionada con la inducción de efectos aversivos (Kiser et al., 1978a), y la región ventral, más implicada en los estudios que generan analgesia (Akil & Liebeskind, 1975; Kiser et al., 1978b). Sin embargo, se ha comprobado que en el caso de la sustancia negra, existen altas correlaciones entre el efecto aversivo y la analgesia inducida por estimulación eléctrica de baja intensidad, un hecho que ha

conducido a proponer que el efecto analgésico sea secundario al carácter estresante o aversivo de la estimulación (Prado & Roberts, 1985), aunque también está la posibilidad de que se activen a la vez, conjuntamente.

Aminoácidos excitatorios

Existen numerosas pruebas que indican que los aminoácidos excitatorios participan de una manera esencial en las reacciones somáticas y autonómicas propias de las conductas defensivas (Bandler & Carrive, 1988; Depaulis et al., 1989; Zhang et al., 1990). De hecho, microinyecciones de agonistas NMDA en el colículo inferior provocan un patrón (dosis-dependiente) de conductas defensivas muy similar al que se produce incrementando gradualmente la intensidad de la corriente eléctrica en esta estructura (Cardoso et al., 1994). Inicialmente los animales muestran conductas de alerta, tras dosis intermedias se constata una inmovilidad moderada, que progresa hacia una intensa activación conductual al administrar dosis elevadas. Por su parte, las microinyecciones de glutamato en el colículo inferior, activando principalmente los receptores AMPA-Kainato, inducen reacciones aversivas que se caracterizan también por su inmovilidad, si bien ahora no se observa activación conductual intensa (Pandossio & Brandao, 1999).

En resumen, los datos disponibles sugieren que los colículos inferiores, los colículos superiores y la parte dorsal de la sustancia negra participan en el procesamiento de los estados motivacionales aversivos subyacentes a las manifestaciones autonómicas, motoras y conductuales de la reacción de defensa. Este sustrato neural de aversión en el mesencéfalo dorsal puede ser modulado por mecanismos GABAérgicos, serotoninérgicos, neuropeptídicos, opiáceos y glutamatérgicos.

8. DOPAMINA, OPIÁCEOS Y CONDUCTA MOTIVADA

8.1. LA VÍA DOPAMINÉRGICA MESOLÍMBICA.

El sustrato neuroanatómico más estudiado con respecto a la recompensa cerebral ha sido la vía dopaminérgica mesolímbica, una vía que se dirige desde el área tegmental ventral al núcleo accumbens (Vetulani, 2001; Fernández-Espejo, 2002; Ma et al., 2009; Koob & Volkow, 2010), y que aparece representada gráficamente en la siguiente figura:

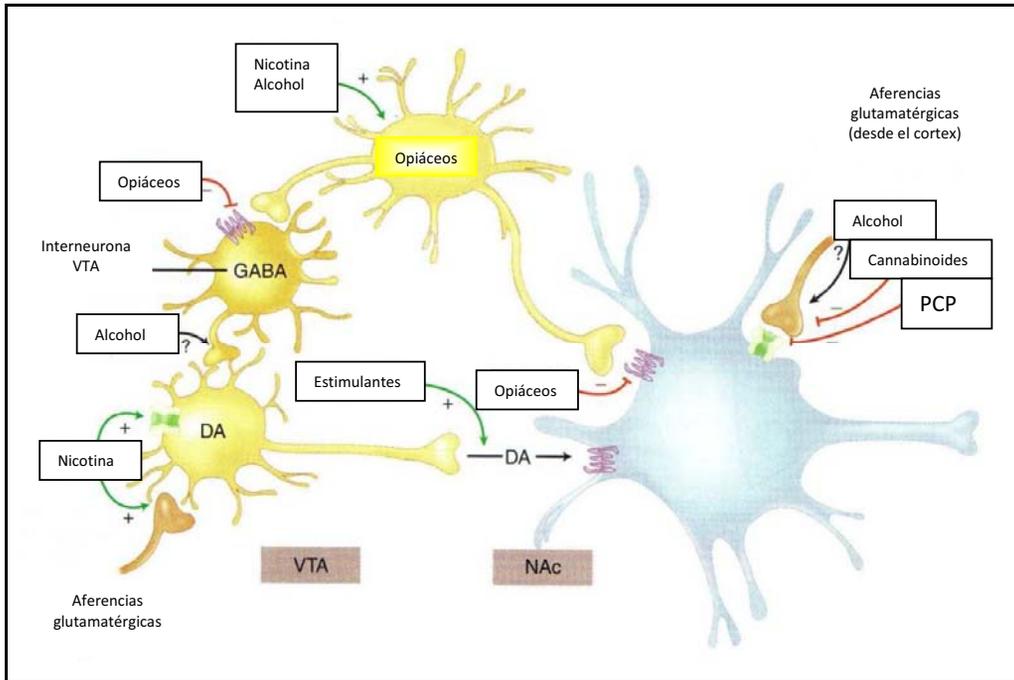


Figura 4. Representación gráfica de la vía dopaminérgica mesolímbica y de los principales lugares de acción de las distintas drogas de abuso. Figura adaptada de Nestler, Hyman y Malenka (2009).

En los últimos tiempos, el estudio de la vía dopaminérgica mesolímbica se ha centrado sobre todo en el análisis de su papel en el desarrollo y mantenimiento de la adicción a las drogas de abuso. En general, se produce un incremento en la dopamina de este sistema al administrar drogas de abuso a los animales (Di Chiara & Imperato, 1988; Pothos et al., 1991; Tanda et al., 1997; Shippenberg & Elmer, 1998; Camarero et al., 2002; Fernández-Espejo, 2002; Cadoni et al., 2005; Koob & LeMoal, 2006; Pierce & Kumaresan, 2006; Aragona et al., 2008; Ma et al., 2009). Inicialmente, estos datos fueron interpretados en el sentido de que este neurotransmisor estaría relacionado con el procesamiento hedónico positivo (Ungless, 2004). Sin embargo, resultados posteriores han convertido esta cuestión en un tema muy debatido (Wise, 2004; Koob & Volkow, 2010).

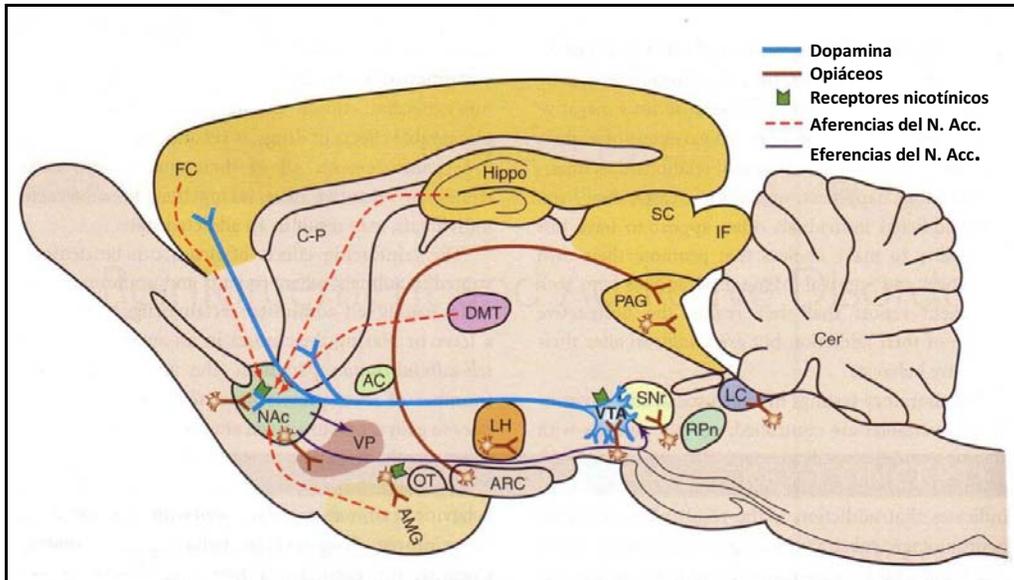


Figura 5. Representación esquemática de los sistemas de recompensa cerebral implicados en la acción de las distintas drogas de abuso. Las líneas rojas discontinuas representan las aferencias glutamatergicas del Núcleo Accumbens (N. Ac.). Las líneas moradas representan las eferencias del N. Ac. que estarían implicadas en la recompensa. Las líneas azules más gruesas muestran la vía dopaminérgica mesolímbica. Como se aprecia en la figura, las neuronas del Área Tegmental Ventral (ATV) proyectan al N. Ac., pero también a otras estructuras como al Caudado-Putamen, al Tubérculo Olfatorio o a la Amígdala. Las líneas marrones indican las neuronas opiáceas, lo que podría sugerir que estos sistemas están implicados en la recompensa inducida por los opiáceos, el alcohol y, posiblemente, la nicotina. Las áreas en amarillo señalan la distribución aproximada de los receptores GABA(A), posiblemente mediadores de la recompensa sedativa o hipnótica del etanol. En verde oscuro se pueden observar los receptores nicotínicos, localizados en neuronas glutamatergicas, opiáceas y dopaminérgicas. Abreviaturas: AC: Comisura Anterior; ARC: Núcleo Arqueado; Cer: Cerebelo; DMT: Tálamo Dorsomedial; FC: Corteza Frontal; Hipocampo: Hipocampo; IF: Colículo inferior; LC: Locus Coeruleus; LH: Hipotálamo Lateral; OT: Tracto Olfatorio; PAG: Sustancia Gris Central; RPn: Núcleo del Rafé; SC: Colículo Superior; SNr: Sustancia Negra pars reticulata; VP: Palidum Ventral. Figura tomada de Nestler, Hyman y Malenka (2009).

Parece bien establecido, sin embargo, que las sustancias psicoestimulantes (anfetamina, cocaína) suelen inducir un incremento directo de la liberación de dopamina en esta vía, bien a través de la inhibición del transportador de la dopamina (las dos sustancias mencionadas) o bien mediante el incremento de la excitación en el caso de las anfetaminas (Heikkila et al., 1975; Ritz et al., 1987; Volkow et al., 1997; Aragona et al., 2008; Thomsen et al., 2009). Los opiáceos, por su parte, actúan sobre receptores opioides tipo μ que inhiben a las interneuronas gabaérgicas, favoreciendo así la activación de las neuronas dopaminérgicas del ATV (Johnson & North, 1992; David et al., 2008; Zhang et al., 2008; Dacher & Nugent, 2010; Madhavan, Bonci & Whistler, 2010). Con respecto a la nicotina, ésta parece actuar directamente sobre los receptores nicotínicos localizados en las neuronas del ATV y presinápticamente en el núcleo accumbens, estimulando la actividad dopaminérgica mesolímbica (Watkins et al., 2000; Mamedi-Engvall et al., 2006). En el caso de los cannabinoides, la acción de estos productos se ejercería a través de los

receptores CB1 localizados igualmente en las neuronas dopaminérgicas del ATV así como del núcleo accumbens, entre otras áreas cerebrales (Iversen, 2003). La fenciclidina (PCP) y la ketamina aumentan la liberación de glutamato en el ATV y, por lo tanto, estimulan las neuronas dopaminérgicas (Camarero et al., 2002; Cadoni et al., 2005; Nestler, Hyman & Malenka, 2009). Finalmente, sustancias como las benzodiacepinas y el alcohol actúan sobre receptores GABA(A) situados en el ATV, el núcleo accumbens y la corteza prefrontal y que, a su vez, modulan la actividad dopaminérgica sobre dichas áreas (Enoch, 2008; Xiao & Ye, 2008; Tan et al., 2010). En cualquier caso, este sistema neuroquímico ha sido relacionado también con estructuras troncocefálicas y así, por ejemplo, el núcleo accumbens está recíprocamente conectado con núcleo tegmental pedúnculo pontino, una región situada rostralmente al complejo parabraquial y con el cual se fusiona casi imperceptiblemente (Saper & Loewy, 1982). Más aún, recientemente se ha demostrado que algunas de estas áreas caudales implicadas en conductas de refuerzo están interconectadas entre sí, como es el caso de la interrelación entre el ATV y el complejo parabraquial (Coizet et al., 2010; Tokita et al., 2010).

8.2. FUNCIONES DE LA DOPAMINA EN EL PROCESAMIENTO DE LAS MANIFESTACIONES DE RECOMPENSA.

Aunque en general se piensa que las neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo desempeñan una función esencial en el procesamiento de la recompensa, existen propuestas alternativas según las cuales estas neuronas podrían ser activadas por cualquier estímulo destacado (o “saliente”), recompensante o no (Horvitz et al., 1997; Horvitz, 2000; Wise, 2004).

En efecto, las primeras hipótesis sobre el papel de la dopamina en el desarrollo de las conductas motivadas atribuían a este neurotransmisor la valoración hedónica positiva de los estímulos (Wise, 1982; Ungless, 2004), al tiempo que se consideraba que el efecto inducido a través de neurolépticos sería semejante a un efecto de extinción (Wise, 1982). Las propuestas de este Modelo General de Anhedonia (Wise, 1982) se apoyaban en evidencias experimentales que mostraban una mayor liberación de dopamina en tareas experimentales que incluían la presentación de reforzadores tanto naturales, por ejemplo la presentación de alimento o un compañero sexual (Ghiglieri et al., 1997; Bassareo & Di Chiara, 1999; Phillips, 2003; Roitman et al., 2004a; Rodríguez & Pellicer, 2010), como artificiales, las drogas de abuso (Di Chiara & Imperato, 1988; Pothos et al., 1991; Tanda et al., 1997; Shippenberg & Elmer, 1998; Camarero et al., 2002; Fernández-Espejo, 2002; Zarrindast et al., 2003; Cadoni et al., 2005; Koob & LeMoal,

2006; Pierce & Kumaresan, 2006; Aragona et al., 2008; Ma et al., 2009) o incluso la estimulación eléctrica intracerebral (Garris et al., 1999; Kilpatrick et al., 2000; Hernández et al., 2008; Hernández & Shizgal, 2009).

Un análisis funcional más detallado de las neuronas dopaminérgicas revelaba que éstas suelen exhibir una rápida y breve actividad en respuesta a estímulos recompensantes inesperados o también ante estímulos inesperados que predicen una recompensa. Por el contrario, la presentación de una recompensa esperada, no genera una respuesta apreciable en las neuronas dopaminérgicas (Mirenowicz & Schultz, 1994). Por su parte, la ausencia de una recompensa esperada provoca una inhibición de las neuronas dopaminérgicas (Tobler et al., 2005). En otras palabras, las neuronas dopaminérgicas generan respuestas fásicas y de corta latencia cuando se produce una discrepancia entre las recompensas actuales y las previstas (Schultz, 2002). Más aún, en un estudio reciente se sugiere la relevancia de la dopamina en la atribución de propiedades de incentivo (más que predictivas) a los estímulos condicionados o claves de recompensa (Flagel et al., 2011).

El análisis del patrón temporal de la actividad de las células dopaminérgicas durante el desarrollo del Condicionamiento Clásico muestra que las recompensas primarias generan activación neural durante los periodos iniciales de aprendizaje, una activación que disminuye progresivamente a lo largo del desarrollo del aprendizaje y va siendo transferida al estímulo condicionado que predice la recompensa (Mirenowicz & Schultz, 1994; Flagel et al., 2011). Es decir, durante la fase de adquisición del aprendizaje, tanto las recompensas como los estímulos condicionados relacionados elicitaban una respuesta. Sin embargo, una vez establecido el aprendizaje, la activación sólo se observa durante la presentación de los estímulos condicionados (Ljungberg, Apicella & Schultz, 1992; Schultz, Apicella & Ljungberg, 1993; Flagel et al., 2011). Este patrón temporal ha sido comprobado a través de diversos estímulos condicionados (Schultz, 2002) y pone de manifiesto su importancia para facilitar el procesamiento neural y el aprendizaje de reacciones conductuales (Ljungberg et al., 1992).

Dentro de este planteamiento teórico relacionado con la dopamina, debemos destacar los intentos recientes para integrar estos resultados dentro de las teorías psicológicas de la motivación (Schultz, 2006). En este sentido, se ha comprobado que el concepto de “error de predicción” resulta fácilmente compatible con el comportamiento de las neuronas dopaminérgicas que se ha descrito hasta ahora. Este concepto teórico deriva de observaciones experimentales según las cuales las recompensas, por el hecho de ser previstas, suelen perder fuerza asociativa o, lo que es lo mismo, dejan de contribuir al aprendizaje, aunque se den los requisitos de contigüidad temporal y contingencia (Rescorla & Wagner, 1972). Así, el grupo de

Schultz descubrió que las neuronas dopaminérgicas responden ante los estímulos condicionados sólo en el caso de que estén asociados a recompensas no previstas, sin que se observe actividad dopaminérgica tras la presentación de estímulos asociados a recompensas predichas y que, por lo tanto, no generan error de predicción (Waelti et al., 2001).

Al analizar temporalmente la liberación de dopamina durante la realización de una tarea instrumental (presión de una palanca para conseguir una recompensa), Roitman y colaboradores (2004a) han demostrado que la señal sensorial que establece el momento de presionar la palanca para conseguir sacarosa es determinante para evocar la liberación de dopamina con una corta latencia, aunque era el momento de presión de la palanca el que coincidía con la máxima liberación. Una vez presionada la palanca, y mientras el animal consumía la sacarosa, ya no se detectaban incrementos en la dopamina, sino que de hecho ésta volvía a los niveles basales. Este mismo grupo ha demostrado también que en el caso de utilizar cocaína como reforzador, la liberación de dopamina extracelular ocurre tanto en los segundos previos al momento de presionar la palanca como en los siguientes (Phillips et al., 2003). Asimismo, se han examinado los cambios temporales producidos en la dopamina extracelular y la búsqueda de cocaína, y se ha comprobado que la estimulación eléctrica del área tegmental ventral incrementa la probabilidad de presionar la palanca dentro de los 5-15 segundos posteriores a la estimulación (Phillips et al., 2003). El hecho de que la dopamina evocada eléctricamente influya en la conducta facilitando respuestas instrumentales para conseguir cocaína es una prueba convincente de que la dopamina desempeña un papel decisivo en las conductas de búsqueda de las drogas de abuso. Así, este grupo ha relacionado el proceso de liberación de dopamina más con la búsqueda o acción para conseguir la recompensa que con el procesamiento del impacto hedónico propiamente dicho (Roitman et al., 2004a).

Por su parte, la liberación de dopamina en el núcleo accumbens durante la AEIC (Garris et al., 1999) es mayor cuando es el experimentador quien administra la estimulación eléctrica, sin que se observe liberación de dopamina durante la autoestimulación propiamente dicha. En realidad, sólo se observa en el primer ensayo y luego disminuye, correlacionando su actividad más con el aprendizaje de la tarea de autoestimulación con que la valoración hedónica de la misma (Owesson-White et al., 2008).

Estos distintos planteamientos sobre la función de la dopamina en los procesos de recompensa resultan aún más controvertidos tras la demostración de que los animales carentes de dopamina mantienen su capacidad de valoración hedónica positiva (Cannon & Palmiter, 2003; Cannon & Bseiki, 2004). Concretamente, Cannon y Palmiter (2003) han analizado el patrón de la

ingesta y las preferencias mostradas por ratones (genéticamente manipulados) que carecían de dopamina. Los resultados obtenidos demuestran que la ausencia casi absoluta de dopamina en el núcleo accumbens no reduce las reacciones afectivas positivas a la sacarosa. En cualquier caso, el nivel absoluto de las conductas relacionadas con la recompensa es bajo en este tipo de ratones mutados (comparado con los controles). Además, se observa una mayor incidencia de respuestas inapropiadas o inefectivas, de manera análoga a los animales normales tratados con neurolépticos (Mason et al., 1980; Gramling et al., 1984). Sin embargo, aunque el nivel absoluto de ingesta en este tipo de ratones sea menor que el de los controles, la cantidad y dirección apropiadas de sus conductas aproximativas a la recompensa sugieren que su motivación para obtener refuerzo permanece intacta o al menos parcialmente conservada. Esta observación no se limita a las preferencias gustativas, sino que también ha sido reproducida con otros estímulos reforzantes naturales como los referidos al sexo (Ellingsen & Agmo, 2004; Paredes & Agmo, 2004; Agustín-Pavón et al., 2007), o a estímulos condicionados sonoros (Martín-Iverson et al., 1987)

La probabilidad de que deba atribuirse a la dopamina una función más general se ve apoyada también por el hecho de que ha sido implicada incluso en el procesamiento de conductas de carácter aversivo (Lorden et al., 1980; Di Scala & Sandner, 1989; Salamone, 1994; Rada et al., 1998; Reilly & Trifunovic, 2000b; Fenu et al., 2001; 2005).

En resumen, este conjunto de resultados descritos parecen sugerir que la participación de la dopamina en las conductas de recompensa no se limita, como se había propuesto originalmente, al procesamiento hedónico de los estímulos. La aparición de nuevas hipótesis sobre su aportación al desarrollo de las conductas motivadas puede permitir una mejor comprensión de la significación funcional de este neurotransmisor.

Relevancia incentiva (saliencia o wanting)

Una de las hipótesis más llamativas acerca del papel de la dopamina en el desarrollo de conductas motivadas es la hipótesis planteada por Kent Berridge y Terry Robinson. Al hablar de motivación, estos autores introducen dos conceptos que denominan impacto hedónico *-liking-* y conductas de búsqueda *-wanting-* (Berridge, 1996; 2003; Berridge & Robinson, 1998).

Para medir el primer constructo (*liking*), estos autores suelen utilizar las reacciones faciales generadas ante la presentación de distintos estímulos gustativos (Grill & Norgren, 1978; Treit & Berridge 1990; Berridge 1996; 2000; Berridge & Robinson, 1998; Peciña & Berridge,

2005). Un prototipo de reacción afectiva positiva es la reacción hedónica al sabor dulce, que se observa tanto en animales como en seres humanos (Grill & Norgren, 1978).

Por su parte, el concepto *wanting* (que en castellano podría traducirse libremente por “querer tener”) podría considerarse como la relevancia incentiva. Berridge propone que este último proceso psicológico es el que, por ejemplo, se activaría con la estimulación eléctrica del hipotálamo lateral y de la vía dopaminérgica mesolímbica (Berridge & Valenstein, 1991; Berridge & Robinson, 1998; Berridge, 2003; Flagel et al., 2011). Esta “saliencia” incentiva sería un constructo de valencia no hedónica, es decir, un proceso que sirve para hacer al estímulo y sus representaciones más atractivos y se atribuye, sobre todo, a estímulos condicionados o claves de recompensa. Da lugar a una búsqueda intensa del estímulo e incluso en muchos casos de manera irracional. Las drogas que realzan el *liking* también realzan el *wanting*, por lo que la clave para estos autores es poder disociar adecuadamente ambos componentes de la conducta motivada en sus experimentos.

Robinson y Berridge (2003) utilizan también este modelo para explicar la drogadicción, atribuyendo esta problemática no sólo a un aprendizaje E-E en sí mismo, sino sobre todo a la respuesta exagerada del sistema motivacional cerebral ante claves condicionadas a las drogas de abuso (Flagel et al., 2011).

Existen pocas dudas de que las drogas adictivas alteran marcadamente los sistemas cerebrales. Estos circuitos pueden hacerse sensibles específicamente a los efectos de una determinada droga o a los estímulos asociados a la droga (Taylor & Robbins, 1984), lo cual causaría una atribución de saliencia incentiva patológica (Di Chiara & Bassareo, 2007; Flagel et al., 2011). Este proceso de atribución de saliencia incentiva puede activarse tanto de manera implícita (el individuo no es consciente) como explícita, un problema fundamental en la transición del consumo a la adicción así como en la recaída.

Por lo tanto, la conducta motivada comprendería tanto las reacciones ante estímulos biológicamente relevantes y necesarias para la supervivencia como también aquellos comportamientos realizados para alejarse de estímulos que ponen en peligro o amenazan al individuo (Smith et al., 2002; Phillips, 2003).

En este contexto, estudios recientes han revelado que los ratones mutados genéticamente y que carecen de dopamina muestran un importante déficit para la búsqueda de la recompensa (*wanting*) en un laberinto en T (Robinson et al., 2005), un déficit que puede ser recuperable al restaurar los niveles de dopamina mediante la administración de L-Dopa (Berridge, 2005). En este mismo estudio, se demuestra también que el aprendizaje o asociación

entre la recompensa y las claves asociadas es todavía posible en ausencia de dopamina. Al parecer, el mayor déficit provocado por la ausencia de dopamina se genera, una vez más, en las respuestas instrumentales aprendidas, ya sean mantenidas por estímulos reforzantes apetitivos o aversivos (Smith et al., 2002).

La reactividad emocional o motivacional

Algunas hipótesis tratan de explicar el papel preponderante de la dopamina en la conducta motivada a través de su posible implicación en el *arousal* conductual (Chiodo et al., 1980), más pronunciado cuando el organismo responde a estímulos de índole emocional. Desde este punto de vista, se ha propuesto que la interferencia provocada por las intervenciones efectuadas sobre la dopamina en las conductas motivadas puede no afectar directamente a la valencia percibida del estímulo, sino más bien a la reactividad conductual provocada por los estímulos de carácter emocional (Salamone, 1992; 1994). De esta manera, el efecto provocado por la manipulación dopaminérgica podría tener como consecuencia un cambio en el estado afectivo que haría menos probable que el organismo pudiera evitar estímulos aversivos y también que pudiera tener acceso a estímulos apetitivos (Salamone, 1992). En esta propuesta se introduce el concepto de “*anergia*”, un efecto que producirían los fármacos neurolépticos sobre los procesos sensoriomotores complejos y que se manifestarían en forma de enlentecimiento motor, menor reacción ante determinados estímulos y sesgo en la selección de respuesta hacia opciones menos costosas (Salamone et al., 1997; Bardgett et al., 2009; Salamone, 2009). Por su parte, la administración de agonistas dopaminérgicos, como las anfetaminas, sesga la elección de los animales en el sentido contrario, es decir, hacia las opciones más costosas (Bardgett et al., 2009). En resumen, Salamone y sus colaboradores proponen que la dopamina estaría específicamente implicada en la valoración costes/beneficios de ejecutar una acción para conseguir un estímulo relevante (Salamone, 2009).

Para proponer esta hipótesis, Salamone analiza el papel de la dopamina en las conductas apetitiva y aversivamente motivadas, destacando la especial relevancia de la dopamina en las conductas aproximativas o preparatorias más que en las conductas consumatorias per se (Chiodo et al., 1980; Everitt, 1990; Salamone, 1992; 1994; Salamone et al., 1997; Barbano & Cador, 2007).

Enlentecimiento de la respuesta: ¿Interferencias motoras?

La mayoría de los estudios que han analizado el efecto de los antagonistas dopaminérgicos sobre la conducta instrumental aprendida han puesto de manifiesto un incremento de la latencia de respuesta (Carli et al., 1985; Spivak & Amit, 1986; White et al., 1992) o alternativamente un enlentecimiento de la misma (Kirkpatrick & Fowler, 1989). Estas conclusiones coinciden, al menos parcialmente, con los resultados obtenidos mediante técnicas lesivas (Robbins & Koob, 1980) y son compatibles con los efectos secundarios motores inducidos por la mayoría de los antagonistas dopaminérgicos (Zarevics & Setler, 1979; Beninger et al., 1980a; 1980b; Ettenberg et al., 1980; Fenton & Liebman, 1982; Hamilton et al., 1985; Peciña et al. 1997).

En cualquier caso, parece improbable que estos incrementos en la latencia de respuesta puedan explicarse exclusivamente por inhibición o problemas motores per se, ya que el efecto enlentecedor de los neurolépticos puede ser contrarrestado aumentando simplemente la complejidad o novedad del entorno (Lynch & Carey, 1987).

Otras explicaciones propuestas

Existen otras hipótesis relacionadas y así, por ejemplo, se ha propuesto que la dopamina podría representar el sustrato neural responsable del procesamiento de la novedad o de la expectativa de recompensa (Garris et al., 1999; Phillips, 2003), unas funciones que incluirían claramente a la dopamina dentro del ámbito de las teorías del aprendizaje

8.3. SISTEMAS NEUROQUÍMICOS IMPLICADOS EN LA VALORACIÓN HEDÓNICA DE LOS ESTÍMULOS. EL SISTEMA OPIÁCEO COMO CANDIDATO.

Las interacciones entre el sistema opiáceo endógeno y los sistemas dopaminérgicos están bien establecidas (Hernández & Appel, 1980; Bozarth & Wise, 1983; Balcells-Olivero & Vecina, 1997; Manzanedo, 2001; Santi & Parker, 2001; Kornetsky, 2004). Múltiples efectos opiáceos parecen implicar a los sistemas dopaminérgicos tanto anatómicamente como funcionalmente (Stellar & Rice, 1989), interactuando con ellos en estructuras cerebrales tales como el área tegmental ventral y el núcleo accumbens, entre otras.

El sistema opiáceo endógeno consta de tres tipos de receptores (Herz, 1998): μ (mu), δ (delta) y κ (kappa). Cada uno de los opiáceos endógenos tienen afinidad preferencial por un tipo de receptor: las encefalinas por los receptores delta; la β -endorfina por los receptores delta y mu; y las dinorfinas A y B por los receptores kappa. Estos receptores opiáceos están ampliamente distribuidos en el sistema nervioso central, y se sitúan particularmente en las estructuras cerebrales que participan, por ejemplo, en la ingesta alimentaria y la recompensa (Mansour et al., 1987; Cota et al., 2006). Existe una amplia variedad de antagonistas específicos para cada uno de los receptores. Por ejemplo, la pentazocina o la nor-binaltorfimina actúan específicamente sobre los receptores kappa (Crain & Shen, 2007; Chiba et al., 2009); el bromuro de metilnaltrexona o el CTOP bloquean selectivamente los receptores mu (Sante, Nobre & Brandão, 2000; Rotshteyn et al., 2011); y el naltrindole actuaría preferentemente sobre los receptores delta (Carr & Pappadouka, 1994; Reid et al., 1993; 1996; Daniel et al., 2009). También se dispone de un conjunto de antagonistas inespecíficos, como la naloxona o la naltrexona, que pueden bloquear varios tipos de receptores opiáceos al mismo tiempo (Daniel et al., 2009; Sánchez-Catalán et al., 2009).

Frecuentemente la valoración hedónica ha sido cuantificada y analizada a través de las reacciones faciales del individuo ante la administración de, por ejemplo, diferentes estímulos gustativos, una reacción que se ha venido considerando como un buen índice de los procesos hedónicos centrales (Berridge & Robinson, 1998; Berridge, 2000). En esta línea, diversos estudios experimentales han demostrado que el sistema neurotransmisor opiáceo podría participar en la valoración hedónica positiva (Peciña & Berridge, 2005), mientras que, por el contrario, los antagonistas dopaminérgicos tendrían escasa relevancia en estas manifestaciones conductuales (Treit & Berridge, 1990; Berridge & Robinson, 1998).

Concretamente, se ha comprobado que la administración de agonistas opiáceos, especialmente agonistas mu, incrementa la ingesta de alimento, mientras que los antagonistas opiáceos provocan una reducción en el consumo, especialmente en el caso de ratas saciadas y con acceso a alimento apetitoso *-palatable-* (Levine et al., 1990; Levine, 2006; Barbano & Cador, 2007). Utilizando tareas de condicionamiento gustativo, se ha puesto de manifiesto también que el bloqueo del sistema opiáceo puede interferir con el desarrollo de preferencias gustativas (Levine, 2006).

Esta relación entre los sistemas opiáceos y la nutrición ha sido confirmada en experimentos que emplean estimulación eléctrica intracerebral. Es bien sabido que la estimulación eléctrica del hipotálamo lateral genera tanto ingesta de alimento y/o agua como

conductas de autoestimulación (Olds & Fobes, 1981; Rolls, 1982; 1994; Wise & Rompré, 1989; Robbins & Everitt, 1999). En estos estudios se ha demostrado que la administración de naloxona incrementa los umbrales para inducir ingesta, mientras que afecta en menor medida a los umbrales de AEIC (Carr, 1996). Por su parte, la administración de naloxona cuaternaria, una sustancia que no atraviesa la barrera hematoencefálica, no afecta al umbral de inducción de las conductas de ingesta, lo cual sugiere que la naloxona ejerce su efecto facilitador directamente en el Sistema Nervioso Central (Carr & Simon, 1983). Este efecto inhibitor sugiere que el incremento de los umbrales podría deberse a una reducción en la *palatabilidad* percibida. En este sentido, Wolinsky y colaboradores (1996) han demostrado que, en los animales privados, se produce una disminución en el número de receptores μ en la amígdala basolateral-basomedial, en el complejo parabraquial y en la habénula, mientras que sólo en la habénula se observa una reducción de los receptores kappa. Un incremento de los receptores kappa ha sido detectado en el núcleo lecho de la estría terminal, el pallidum ventral, el área preóptica medial y el área parabraquial. Específicamente, Carr y asociados (1999) han demostrado que mientras los agonistas μ exógenos son recompensantes, el bloqueo de la actividad opiácea μ endógena resulta aversivo. Los agonistas κ , por su parte, no son recompensantes pero facilitan la ingesta. Finalmente, aunque el bloqueo de la actividad opiácea endógena κ puede no resultar aversivo, suprime la ingesta alimenticia, posiblemente atenuando el componente hedónico inducido por el sabor. De acuerdo con todos estos datos, parece probable que los receptores μ modulen la recompensa (*reward*) en general, mediante un efecto directo sobre esta vía del refuerzo, mientras que los receptores κ , por su parte, modularían selectivamente la ingesta mediante sus efectos en el circuito aferente gustativo (Carr et al. 1999).

Por último, el bloqueo de la naloxona también puede producirse durante el desarrollo de preferencias espaciales inducidas mediante estímulos apetitivos naturales, como es el caso de los estímulos sexuales (Miller & Baum, 1987), el agua o los compañeros de juego (Crowder & Hutto, 1992b).

Por otra parte, se ha demostrado que los antagonistas opiáceos (naltrexona, naloxona y diprenorfina) provocan una reducción significativa en el ritmo de AEIC (Ichitani et al., 1985; Schaefer & Michael, 1985a; 1988; Van Wolfswinkel & Van Ree, 1985; Bielajew et al., 2003; Easterling & Holtzman, 2004), si bien esta reducción fue mucho más intensa cuando los animales recibieron un pretratamiento con morfina (Schaefer & Michael, 1986; Easterling & Holtzman, 2004).

En general, se puede concluir, a través del empleo de muy diferentes técnicas (AEIC, condicionamiento de preferencia por un lugar y condicionamiento de preferencias gustativas) que

los agonistas opiáceos actúan mayoritariamente como recompensantes de la conducta (Bozarth & Wise, 1981; Crowder & Hutto, 1992a; 1992b; Sakoori & Murphy, 2008), mientras que los antagonistas opiáceos suelen generar efectos aversivos (Stolerman, 1985; Sakoori & Murphy, 2008; Solecki et al., 2009). Este sería el caso de la naloxona, que ejercería sus efectos aversivos actuando particularmente sobre los receptores opioides μ (Skoubis et al., 2001)

De especial relevancia es la relación establecida entre los opiáceos endógenos y el refuerzo/recompensa (*reward*) cerebral característico de las drogas de abuso (p.e. Carr & Simon, 1983; Kuzmin et al., 1997; Nieto et al., 2002; Contet et al., 2004; Cota et al., 2006). Los opiáceos, como prototipo de drogas de abuso, ejercen poderosos efectos sobre el estado de ánimo y la motivación, al tiempo que son ávidamente consumidos y autoadministrados por los animales de laboratorio (Bozarth & Wise, 1981). La naloxona, por su parte, suprime la autoadministración de cocaína de manera dosis-dependiente, además de reducir la preferencia por el compartimento del laberinto asociado a la droga (Kuzmin et al., 1997).

Tanto los animales como los seres humanos desarrollan conductas dirigidas a metas, unas acciones que se basan en el conocimiento de la contingencia entre dichas conductas y sus resultados, y en el conocimiento del valor de esos resultados (Balleine, 1992; Balleine & Dickinson, 1998; 2002). El modelo cognitivo que explica las conductas dirigidas a metas (también llamado “valor de incentivo instrumental”) debe ser diferenciado, sin embargo, de los procesos de valoración que se producen cuando se tiene una experiencia con esa meta (*liking*, reacción hedónica). Así, Cardinal y Everitt (2004) consideran que la dopamina parece ser esencial en los aspectos motivacionales que promueven la aproximación a las recompensas, tanto en el caso de las recompensas demoradas como de la transferencia pavloviana-instrumental o las claves asociadas a recompensas (Holland & Gallagher, 2004). La dopamina del núcleo accumbens participaría en la motivación del sujeto para actuar, un planteamiento que parece coincidir con las propuestas teóricas descritas anteriormente. Sin embargo, el acto de la valoración hedónica de la recompensa en sí misma no dependería de procesos dopaminérgicos, sino que implicaría mecanismos opioides localizados en la cápsula (*shell*) del núcleo accumbens y en sistemas que incluirían el globo pálido y el tronco cerebral (Kelley et al., 2002; Cardinal & Everitt, 2004; Barbano & Cador, 2007). En cualquier caso, para algunos autores, el principal componente de la recompensa opiácea inducida por la acción de las drogas de abuso se localizaría en el ATV (Phillips & LePiane, 1980; Bozarth & Wise, 1981; 1983; Madhava et al., 2010). Es aquí donde las conductas de autoadministración de morfina se adquieren más rápidamente y donde la

administración de antagonistas opiáceos atenúa en mayor medida la recompensa provocada por la administración intravenosa de heroína (Bozarth & Wise, 1981; 1983).

Existe el convencimiento de que las neuronas implicadas en el procesamiento de los refuerzos naturales (comida, sexo e interacciones sociales) pueden ser activadas, aunque de manera anómala, por las drogas de abuso (Vetulani, 2001; Kelley & Berridge, 2002), distorsionando los circuitos cerebrales de la recompensa, algo que ha venido a llamarse procesos de “aprendizaje aberrante” (Everitt & Wolf, 2002; Hyman et al., 2006; Koob & Volkow, 2010). Aunque existen diversos circuitos cerebrales implicados en la recompensa cerebral (Gerrits et al., 2003), y la relevancia de la dopamina es variable, parece probable que el sistema opiáceo pueda desempeñar una función central en el desarrollo de la drogadicción (Cunningham & Kelley, 1992; Bryant, Zaki, Carrol & Evans, 2005; Shoblock & Maidment, 2006).

En cualquier caso, no puede olvidarse que el control de la conducta dirigida a metas no depende exclusivamente de la interacción de estos dos sistemas neurotransmisores, sino que supone la participación de otros sistemas, particularmente los noradrenérgicos (Goudie & Demellweek, 1980).

Finalmente, una temática recientemente planteada y que también implicaría al sistema opiáceo endógeno, es la relacionada con el potencial de abuso de estas sustancias y su capacidad para inducir analgesia (Herz, 1998). La denominada “Hipótesis Analgésica Afectiva” propone que las sustancias analgésicas (no todas) podrían presentar un alto potencial de abuso a causa del estado de analgesia afectiva e indiferencia al dolor que generan. Ahora, los estímulos nociceptivos serían incapaces de desencadenar el distrés emocional o estado motivacional aversivo que normalmente evocan (Franklin, 1998). Conviene destacar al respecto que los sustratos neurales que subyacen a los efectos analgésicos y reforzantes suelen coincidir anatómicamente en casos como los de la cocaína y la morfina (Bozarth & Wise, 1981; Manning et al., 1994; Olmstead & Franklin, 1997). De hecho, las drogas con mayor acción analgésica son también las que muestran un mayor potencial de abuso, y las más ávidamente autoadministradas por los animales (Pickens & Harris, 1968; Bozarth & Wise, 1981). Asimismo, parece bien establecido que los agonistas opiáceos μ y los dopaminérgicos D2 serían los fármacos con mayores propiedades reforzantes (Chaillet et al., 1983; Hoffman & Beninger, 1989) y, a su vez, los que producen una analgesia más potente durante el dolor clínico y experimental (Satoh et al., 1983; Morgan & Franklin, 1991). Estas evidencias experimentales parecen apoyar en general una potencial interacción entre el refuerzo cerebral y la analgesia.

8.4. ESTÍMULOS REFORZANTES NATURALES Y ARTIFICIALES.

La reacción del organismo ante las recompensas naturales y las drogas adictivas presentan ciertas similitudes. Éstas incluyen el componente hedónico (placer), el deseo o *wanting*, y el rápido aprendizaje tanto de claves predictivas (Crowder & Hutto, 1992a; 1992b; Di Ciano & Everitt, 2004) como de secuencias conductuales dirigidas a su consumo. Sin embargo, dos son las principales diferencias entre las recompensas naturales y las drogas de abuso y que resultan decisivas para hacer de la adicción una conducta de alto riesgo. Por una parte, la recompensa inducida por las drogas de abuso tiende a ser sobrevalorada a expensas de otras formas de recompensa (Barr & Phillips, 1999; Di Chiara & Bassareo, 2007; Zhang et al., 2007), con lo cual se contribuye al desarrollo de conductas compulsivas y a una marcada reducción de las metas vitales, esto es, la vida del individuo se reduce a su búsqueda y consumo. Por otra parte, a diferencia de las recompensas naturales, la drogadicción no incluye ningún propósito homeostático ni reproductivo beneficioso, sino que habitualmente provoca un detrimento de la salud y el funcionamiento del organismo (Hyman et al., 2006).

Un análisis general del procesamiento de estos tres tipos concretos de refuerzo (reforzadores naturales, AEIC y drogas de abuso), permite poner de manifiesto que tanto en el refuerzo natural (comida, bebida, sexo, etc.) como en la AEIC no se observa sensibilización en la vía dopaminérgica mesolímbica ni tampoco se producen efectos conductuales de adicción. Así, cuando la administración de estos estímulos recompensantes finaliza, el animal “se olvida” de ellos. Con las drogas de abuso, por el contrario, se produce habitualmente una sensibilización a la dopamina (Cardinal & Everitt, 2004) y los animales pasan a ser dependientes, “quedan enganchados”. Las recompensas naturales y los estímulos que las predicen generan breves incrementos de actividad y posteriores pausas en la tasa de disparo de las neuronas dopaminérgicas. En el caso de las drogas adictivas tales como las anfetaminas y la cocaína se producen incrementos en los niveles de dopamina sinápticos que perduran durante largos espacios de tiempo, incluso horas, perturbando así los patrones normales de liberación de dopamina, tanto tónicos como fásicos, con señales de actividad dopaminérgica potenciada y prolongada (Knutson et al., 2004). Al comparar los correlatos neurológicos de las respuestas instrumentales conducentes a la obtención de recompensas naturales (alimento) o artificiales (cocaína), se ha confirmado de nuevo que las señales dopaminérgicas son particularmente prolongadas sólo en el caso de la mencionada droga de abuso (Phillips et al., 2003; Roitman et al., 2004a). Este incremento dopaminérgico se ha relacionado con una atribución patológica de saliencia incentiva a las drogas de abuso, pero también a las claves que predicen su

disponibilidad (Berridge, 2003; Di Chiara & Bassareo, 2007; Flagel et al., 2011). También se ha demostrado que este sistema neuroquímico puede sufrir cambios irreversibles tras el consumo crónico de drogas, que se manifiestan, por ejemplo, en forma de generación de nuevas sinapsis gabaérgicas en el ATV o en el incremento funcional de los receptores glutamatérgicos y de las *gap junctions* (en el núcleo accumbens) (Fernández-Espejo, 2002; Dacher & Nugent, 2010; Madhavan et al., 2010), además de distintos cambios en la expresión génica (Kily et al., 2008).

Por último, estudios llevados a cabo mediante registros electrofisiológicos han demostrado que la cocaína activa microcircuitos neurales en el núcleo accumbens que serían distintos de los que procesan la información relacionada con las recompensas naturales (Carelli et al., 2000).

Condicionamiento de Preferencias/Aversiones hacia un Lugar

Uno de los procedimientos conductuales más utilizados en el estudio de las propiedades reforzantes, tanto de estímulos naturales como de drogas de abuso, es el Condicionamiento de Preferencias por un Lugar (Spyraki et al., 1982; 1983; Van der Kooy et al., 1982; Bozarth, 1987; Shippenberg & Herz, 1987; Phillips & Fibiger, 1989; Carr et al., 1989; Bilsky et al., 1990; Bals-Kubick et al., 1993; Shippenberg et al., 1987; 1988a; 1993; Bardo et al., 1995; Tzschentke, 1998; McBride et al., 1999; Delamater et al., 2000; Papp et al., 2002; Duarte et al., 2003; Zarrindast et al., 2003; Suzuki et al., 2006; Meng et al., 2010; Velázquez-Sánchez et al., 2010). En este procedimiento, los efectos fisiológicos y las propiedades motivacionales de los distintos tratamientos se asocian a un contexto estimular determinado, que suele ser presentado en contigüidad temporal (Figura 6). Este contexto estimular y los índices sensoriales que incluye tienen inicialmente un valor neutro, que a medida que el condicionamiento progresa, van adquiriendo una valencia emocional o motivacional particular. Esta valencia se pondrá de manifiesto cuando se ofrezca al animal la elección de aquel contexto estimular y otro no asociado a ningún tratamiento (Schechter & Calcagnetti, 1998; Shippenberg & Elmer, 1998; Tzschentke, 1998; Bardo & Bevins, 2000; Spiteri et al., 2000). En el caso de los aprendizajes apetitivos, el animal suele permanecer mayor cantidad de tiempo en el contexto estimular asociado al tratamiento, mientras que si el tratamiento ha sido aversivo, el animal permanecerá más tiempo en el contexto que se le ofrece como alternativa.

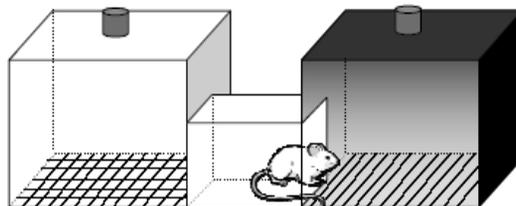


Figura 6. Representación esquemática del modelo de condicionamiento de preferencias por un lugar (CPP) empleado para el análisis de las propiedades reforzantes o aversivas de diferentes tratamientos experimentales. Contabilizando el tiempo que el animal permanece en uno y otro compartimento del laberinto, se puede determinar su preferencia.

Utilizando este procedimiento experimental se ha comprobado que una amplia variedad de estímulos naturales, como el agua y el alimento (Spyraki et al., 1982; Bechara & Van der Kooy, 1992a; Delamater et al., 2000; Spiteri et al., 2000; Papp et al., 2002; Duarte et al., 2003), o artificiales, como la AEIC o las drogas de abuso (Spyraki et al., 1983; Bozarth, 1987; Phillips & Fibiger, 1989; Van der Kooy et al., 1982; Bechara & Van der Kooy, 1992a, b; Bechara et al., 1992; 1993; Bals-Kubik et al., 1993; Olmstead & Franklin, 1993; Nader, Bechara & Van der Kooy, 1994; Maldonado et al., 1997; Ikemoto & Panksepp, 1999; Spiteri et al., 2000; Papp et al., 2002; Duarte et al., 2003) inducen preferencias condicionadas por los estímulos del lugar (o espaciales) con los que previamente han sido asociados. También mediante esta tarea se pueden desarrollar aversiones hacia un lugar, por ejemplo, después de la administración de naloxona tras un prolongado consumo de morfina (Schultheis, Markou, Gold, Stinus & Koob, 1994; Blokhina, Sukhotina & Beshpalov, 2000; Gracy, Dankiewicz & Koob, 2001; Parker, Cyr, Sati & Burton, 2002; Azar, Jones & Schultheis, 2003; Shoblock & Maidment, 2006), un efecto comportamental que ha sido considerado por distintos autores como modelo del Síndrome de Abstinencia “precipitado” (Koob & LeMoal, 2006).

Se han realizado estudios comparativos entre el proceso adquisitivo implicado en el condicionamiento de preferencia por un lugar inducido a través de alimento o mediante la administración de morfina. Para ello, Spiteri y colaboradores (2000) registraron una serie de manifestaciones conductuales que se producen durante los ensayos de esta modalidad de aprendizaje así como en una prueba posterior en la que el reforzador estaba ausente. Estos autores llegan a la conclusión final de que ambos procesos de aprendizaje son conceptualmente diferentes.

Así, proponen estos autores (Spiteri et al., 2000) que en el caso de la morfina se asociaría el estado afectivo provocado por la droga con las claves contextuales. Concretamente, las conductas de aproximación predominan en la prueba de elección, esto es, los animales se acercan y husmean en las paredes y el suelo (claves contextuales), de modo que, en el caso de la morfina, se podría haber desarrollado un proceso de condicionamiento clásico.

Sin embargo, y con respecto al alimento, lo que se asociaría al contexto no sería el estado afectivo provocado por su consumo, sino más bien las conductas de búsqueda y aproximación a éste. El grupo reforzado con comida realizaba visitas más frecuentes y cortas al compartimento anteriormente recompensado, mientras que el grupo tratado con morfina permanecía más tiempo junto a las claves contextuales en cada visita. En el caso de la comida se trataría, según el grupo de Agmo, de un condicionamiento de tipo instrumental (Spiteri et al., 2000).

Es más, utilizando esta tarea experimental, Maldonado y colaboradores (1997) compararon el condicionamiento de preferencias por un lugar inducido por la morfina y el inducido por el alimento en ratones que carecían de receptores dopaminérgicos D2 (mutación genética) y comprobaron que esta mutación interfería drásticamente con el desarrollo normal de condicionamiento de preferencias por un lugar inducido mediante morfina, sin que tuviera efecto alguno en el caso del estímulo recompensante natural.

Sin embargo, el desarrollo del condicionamiento de preferencias por un lugar no sólo depende de las propiedades afectivas del estímulo incondicionado, sino que obviamente también requiere que el animal tenga la capacidad de aprender la asociación entre el estímulo condicionado y el incondicionado, así como que pueda recordarlo y expresarlo adecuadamente (conductas de búsqueda) en la prueba de elección (White et al., 1987; Carr et al., 1989; Olmstead & Franklin, 1997; Schroeder & Packard, 2000). En este sentido, determinados tratamientos (drogas de abuso, administración de sacarosa, AEIC) pueden influir, potenciando o inhibiendo, los procesos relacionados con el aprendizaje y la memoria (Stein, 1965; White & Carr, 1985; Capdevila-Ortiz et al., 1988; Jaeger & Van der Kooy, 1993; 1996; Nader et al., 1997; Saitoh & Inokuchi, 2000; Ruiz-Medina et al., 2008). La administración de morfina particularmente puede potenciar la asociación entre el estímulo incondicionado y el condicionado, así como su posterior recuerdo, incrementando la "saliencia" del estímulo condicionado o la capacidad del animal para discriminar entre las claves asociadas al tratamiento y las asociadas a una intervención neutral (Jaeger & Van der Kooy, 1996), mientras que otros fármacos, como el haloperidol, pueden provocar déficits en el aprendizaje espacial (Terry et al., 2003; Nowakowska

et al., 2007). Por lo tanto, el desarrollo del condicionamiento de preferencias o aversiones hacia un lugar no sólo depende del carácter reforzante o aversivo del tratamiento aplicado, sino que también se debe tener en cuenta su capacidad para modular cualquiera de los procesos mencionados (Olmstead & Franklin, 1997).

Finalmente, también mediante el condicionamiento hacia un lugar se ha puesto de manifiesto que el núcleo subtalámico podría ejercer un efecto opuesto en los microcircuitos de la recompensa, ejerciendo un control inhibitorio sobre los circuitos de refuerzo natural mientras activa los sustratos de los utilizados por la cocaína (Baunez et al., 2005).

Una zona parabraquial particular es el área conocida como 'waist' (cintura), que comprende la parte dorsal de la división parabraquial medial y el núcleo parabraquial lateral ventral, superponiéndose parcialmente con el pedúnculo cerebeloso superior.

La **División Parabraquial Medial** está compuesta por una población de neuronas heterogéneas tanto en su tamaño (de 8 a 19µm) como en su morfología. Se distinguen tres tipos de neuronas:

- Una población de células pequeñas y redondeadas, ligeramente punteadas, que se localiza en los dos tercios caudales del núcleo.
- Una población más reducida de células fusiformes o multipolares de mayor tamaño y con un punteado más oscuro, que tienden a orientarse horizontalmente. Estas células se encuentran en los dos tercios caudales del núcleo, estando más concentradas en el borde ventrolateral.
- Por último, también se ha descrito una población de células poligonales medianas diseminadas por los dos tercios rostrales del núcleo parabraquial medial.

El Núcleo Medial Externo constituye una excepción dentro de la heterogeneidad de la división parabraquial medial, pues está formado por neuronas multipolares grandes orientadas horizontalmente, que forman una estrecha banda que se interpone entre el núcleo Kolliker-Fuse y el pedúnculo cerebeloso superior (Fulwiler & Saper, 1984; Davis, 1991).

La **División Parabraquial Lateral**, por su parte, está constituida por varios grupos de células homogéneas, que pueden distinguirse fácilmente por su morfología y/o distribución espacial. Así, la división lateral cuenta con los siguientes núcleos:

- El Núcleo Parabraquial Lateral Superior tiene un contorno triangular, y está formado por neuronas multipolares o piramidales medianas que se extienden dorsalmente por encima del resto de los núcleos. Se sitúa dentro del tercio rostral del complejo parabraquial.
- El Núcleo Parabraquial Lateral Interno ocupa una posición más medial y más caudal que el anterior, y está rodeado por una zona pobre en cuanto al número de neuronas. Las células que lo constituyen son redondeadas, medianas y oscuras. Se sitúa

inmediatamente ventral a la superficie dorsal del puente, y dorsal al pico medial del pedúnculo cerebeloso superior en el tercio medio de la región parabraquial.

- El Núcleo Parabraquial Lateral Central es el de mayor tamaño de la división lateral. Está compuesto por una población relativamente distribuida de neuronas ovoides o fusiformes que ocupan la mayor parte del área dorsal al pedúnculo cerebeloso superior en los dos tercios rostrales del complejo parabraquial. El extremo más ventrolateral de este subnúcleo ha sido denominado Núcleo Parabraquial Lateral Creciente (*crescent*).
- El Núcleo Parabraquial Lateral Ventral está constituido por una banda de células situadas a lo largo de la superficie del pedúnculo cerebeloso superior, entre su extensión medial y lateral.
- El Núcleo Parabraquial Lateral Dorsal es más reducido en la dimensión rostrocaudal. Limita dorsalmente con el Tracto Espinocerebral Ventral, y ventralmente con el núcleo lateral central. Tanto el núcleo lateral dorsal como el medial se distinguen por ser parecidos al núcleo lateral central, pero con una mayor densidad de neuronas.
- El Núcleo Parabraquial Lateral Extremo es un grupo muy pequeño de neuronas que limitan medialmente con el lemnisco medial. Está constituido por neuronas multipolares, ligeramente más grandes que las células laterales centrales colindantes, que se caracterizan por su mayor densidad y su punteado más oscuro.
- Las neuronas del Núcleo Parabraquial Lateral Externo (NPBLE) son similares a las del núcleo lateral extremo, pero sus límites son fácilmente diferenciables, ya que la región lateral externa se extiende más caudalmente, casi en el punto en el que el pedúnculo cerebeloso superior establece contacto con la superficie dorsal del puente, y lo rodea por su borde dorsolateral (Fulwiler & Saper, 1984; Moga et al., 1990). Sin embargo, hay neuroanatomistas que no diferencian entre los dos últimos núcleos citados, considerándolos como un solo agrupamiento (Swanson, 1992; Paxinos & Watson, 1990).

9.2. AFERENCIAS DEL NÚCLEO PARABRAQUIAL MEDIAL (NPBm)

Se ha demostrado que la División Parabraquial Medial recibe un importante caudal de aferencias procedentes del área rostral del NTS y constituye así el principal relevo de la información gustativa hacia estructuras superiores (Fulwiler & Saper, 1984; Halsell & Travers, 1997; Nishijo & Norgren, 1997; Cho, Li & Smith, 2002; Lundy, 2008; Di Lorenzo et al., 2009;

Geran & Travers, 2009; Hajnal, Norgren & Kovacs, 2009). El NPBm recibe también proyecciones viscerales vagales (a través del NTS), que parecen converger con las fibras gustativas (Hermann & Rogers, 1985; Han et al., 1991; Kobashi et al., 1993).

Es asimismo el lugar de terminación de fibras procedentes de distintas regiones del Prosencéfalo Medial, áreas como el núcleo central de la amígdala, la sustancia innominada y el núcleo lecho de la estría terminal, así como de la corteza insular posterior (Saper, 1982; Moga et al., 1990; Di Lorenzo & Monroe, 1992; Panguluri, Saggi & Lundy, 2009; Zhang et al., 2011).

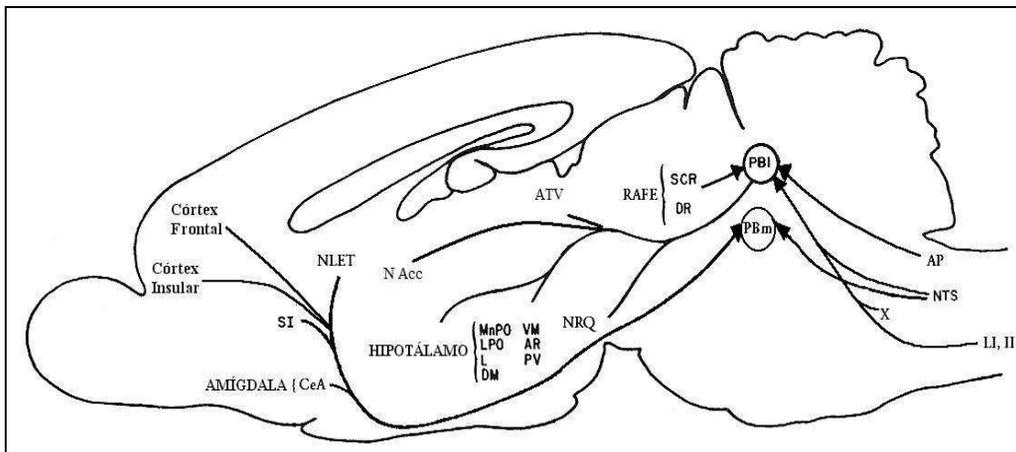


Figura 8. Representación esquemática de las fibras aferentes al Complejo Parabraquial. Abreviaturas: ATV, Área Tegmental Ventral; N Acc, Núcleo Accumbens; AR, Núcleo "Arcuate" del Hipotálamo; AP, Área Postrema; CeA, Núcleo Central de la Amígdala; DM, Núcleo Dorsomedial del Hipotálamo; L, Hipotálamo Lateral; LI,II, Láminas 1 y 2 de la Sustancia Gris Medular; LPO, área Preóptica Lateral; MnPO, Núcleo Preóptico Mediano; NLET, Núcleo Lecho de la Estría Terminal; NRQ, Núcleo Retroquiasmático; NTS, Núcleo del Tracto Solitario; RAFE, Núcleos del Rafe; DR, Núcleo Dorsal del Rafe y SCR, Núcleo Superior Central del Rafe; PV, Núcleo Paraventricular del Hipotálamo; SI, Sustancia Innominada; VM, Núcleo Ventromedial del Hipotálamo; X, Décimo par craneal (Vago) Figura adaptada de García (2009).

9.3. EFERENCIAS DEL NÚCLEO PARABRAQUIAL MEDIAL (NPBm).

Las fibras eferentes originadas en el NPBm proyectan hacia estructuras tanto mesencefálicas como diencefálicas. Así, esta región mantiene conexiones con el Hipotálamo (a excepción de los cuerpos mamilares), sobre todo con la zona posterior del Hipotálamo Lateral, que será la principal zona de terminación de las fibras parabraquiales mediales (Fulwiler & Saper, 1984; Ferssiwi et al., 1987; Bester et al., 1997; Tokita et al., 2010).

Envía proyecciones eferentes hacia el núcleo ventral posterior medial del tálamo, que ha sido considerado un área con funciones gustativas (Fulwiler & Saper, 1984; Halsell, 1992; De Lacalle & Saper, 2000).

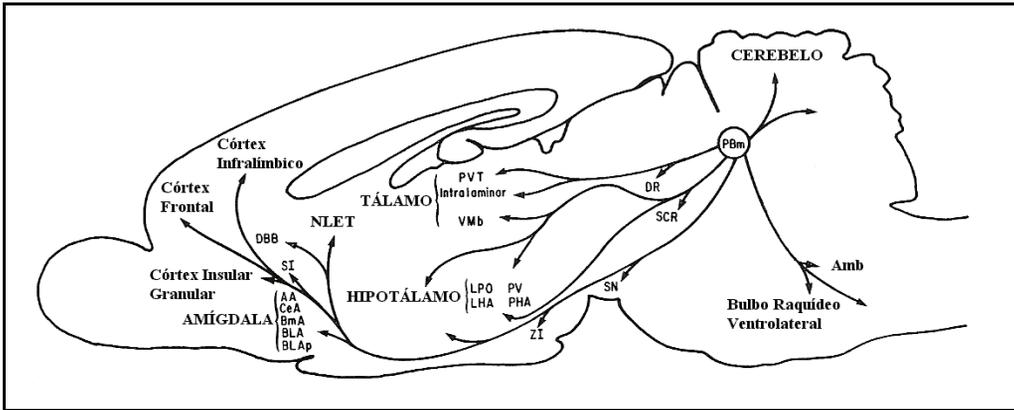


Figura 9. Representación gráfica de las fibras eferentes procedentes del Complejo Parabraquial Medial (PBm): Abreviaturas: AA, Área Amigdalina Anterior; Amb, Núcleo Ambiguo; BLA, Núcleo Basolateral de la Amígdala; BmA, Núcleo Basomedial de la Amígdala; BLAp, Núcleo Basolateral Posterior de la Amígdala; CeA, Núcleo Central de la Amígdala; DR, Núcleo Dorsal del Rafe; DBB, Núcleo de la Banda Diagonal de Broca; LHA, Área Hipotálamica Lateral; LPO, Área Preóptica Lateral; NLET, Núcleo Lecho de la Estría Terminal; VMb, Núcleo Ventromedial Basal del Hipotálamo; PHA, Área posterior Hipotalámica; PV, Núcleo Paraventricular del Hipotálamo; PVT, Núcleo Paraventricular del Tálamo; SCR, Núcleo Superior Central del Rafe; SI, Sustancia Innominada; SN, Sustancia Negra; ZI, Zona Incierta. Figura adaptada de García (2009).

Tanto el NPBm como el área del “waist” están conectados con la amígdala basolateral, cortical y la parte medial del núcleo central de la amígdala (Bernard et al., 1993; Alden et al., 1994). Por otra parte, un significativo grupo de axones procedentes de las neuronas multipolares caudo-mediales así como del subnúcleo medial externo (NPBme), proyectan a la corteza lateral frontal, insular e infralímbica, al tiempo que establecen conexiones con regiones septo-olfatorias (Fulwiler & Saper, 1984; Bernard et al., 1991). Estas conexiones recíprocas entre el cortex insular, y los NTS y NPB son relevantes en ciertos procesos de aprendizaje de índole aversivo, como el aprendizaje aversivo gustativo (Fulwiler & Saper, 1984; Cechetto & Saper, 1987; Ito, 1992; Bernstein, 1999).

Finalmente, existen otras zonas de proyección eferente del NPBm y entre ellas se incluyen la Sustancia Innominada, el Globo Pálido ventral, el Área Subestriada, el Fundus Striatum y la Zona Incierta (Fulwiler & Saper, 1984; Bernard et al., 1993; Alden et al., 1994; Dobolyi et al., 2005).

En sentido caudal, se han identificado proyecciones eferentes desde el NPBm hacia el NTS, la Formación Reticular Bulbar dorsal, al Núcleo Ambiguo y a la parte medial del Núcleo Espinal Trigeminal (Fulwiler & Saper, 1984; Hayakawa et al., 1999).

9.4. AFERENCIAS DEL NÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL (NPBL)

La División Parabraquial Lateral recibe aferencias desde estructuras caudales, como el NTS así como desde otras áreas viscerales implicadas en el control de funciones autonómicas (Loewy & Burton, 1978; Tokita et al., 2009). En efecto, esta división lateral, y sobre todo los subnúcleos externo y central, son el principal lugar de terminación de los axones procedentes de la parte caudal del NTS y del Área Postrema, áreas implicadas en la transmisión de la información visceral (Van der Kooy & Koda, 1983; Fulwiler & Saper, 1984; Hermann & Rogers, 1985; Lança & Van der Kooy, 1985; Herbert et al., 1990; Papas & Ferguson, 1990; Yamamoto et al., 1992; Kobashi et al., 1993; Saper, 1995b; Stein & Loewy, 2010). Con respecto al Área Postrema, se trataría de un órgano circunventricular donde la barrera hematoencefálica es débil, y, por lo tanto, una zona quimio-sensible adecuada para la detección de potenciales cambios que puedan producirse en la composición de la sangre, elicitando así apropiados reflejos automáticos, como es el caso de las manifestaciones de carácter emético (Lança & Van der Kooy, 1985).

Por su parte, el NTS está considerado el primer y principal relevo cerebral en la transmisión de la información visceral a través del Nervio Vago y los nervios esplácnicos (Yuan & Barber, 1991). Un pequeño grupo de fibras vagales parecen proyectar directamente al NPBL (Herbert et al., 1990; Yamamoto et al., 1992; Saleh & Cechetto, 1993; Karimnamazi et al., 2002), y de manera preferente al Núcleo Parabraquial Lateral Externo (Herbert & Flügge, 1995).

También desde la médula, y concretamente desde las láminas I y II, se originan proyecciones dirigidas a los subnúcleos laterales Interno y Central, aferencias implicadas en la transmisión de información nociceptiva y termorreceptiva (Light et al., 1993; Slugg & Light, 1994; Bernard et al., 1995; Saper, 1995a; Bester et al., 2000; Cobos et al., 2003; Mitchel et al., 2004; Andrew, 2010)

La división Parabraquial Lateral también recibe aferencias procedentes de estructuras diencefálicas y prosencefálicas. Concretamente, los subnúcleos Laterales Central y Dorsal reciben proyecciones tanto desde el Hipotálamo (Áreas Preópticas Lateral y Medial, Paraventricular, Dorsomedial, Ventromedial, Lateral y Núcleo Retroquiasmático) (Moga et al.,

1990) como desde la corteza prefrontal lateral, infralímbica e insular (Moga et al., 1990; Di Lorenzo & Monroe, 1992; Godino et al., 2010).

Por último, también existen conexiones bidireccionales entre el Núcleo Central de la Amígdala y varios subnúcleos parabraquiales. Así, el núcleo central amigdalino inerva la división parabraquial medial, el área *waist* y los subnúcleos laterales ventral y externo y, a su vez, estas mismas regiones proyectan hacia el núcleo central originario (Petrovich & Swanson, 1997; De Lacalle & Saper, 2000). Recientemente se han identificado proyecciones directas al Complejo Parabraquial procedentes de la cápsula (*Shell*) del Núcleo Accumbens y del ATV, áreas cerebrales implicadas en el procesamiento de la recompensa (Usuda, Tanaka & Chiba, 1998; Tokita et al., 2010).

9.5. EFERENCIAS DEL ÁREA PARABRAQUIAL LATERAL (NPBL).

La División Parabraquial Lateral genera numerosas eferencias que se dirigen hacia estructuras rostrales, como el hipotálamo, el tálamo, la amígdala y algunas regiones corticales (Fulwiler & Saper, 1984; Bernard et al., 1991; 1993; Halsell, 1992; Petrov et al., 1992; Alden et al., 1994; Dobolyi et al., 2005; Tokita et al., 2010). Esta área también proyecta caudalmente hacia NTS, el Bulbo Ventrolateral, la Formación Reticular Bulbar, los Núcleos del Rafé, el Complejo Nuclear Sensorial del Trigémico, llegando incluso hasta las Astas Dorsales Espinales (Saper & Loewy, 1980; Fulwiler & Saper, 1984; Herbert et al., 1990; Bernard et al., 1991; 1993; Halsell, 1992; Petrov et al., 1992; Alden et al., 1994; Yoshida et al., 1997; Lee et al., 2003).

Con respecto al hipotálamo, las vías eferentes parabraquiales suelen proyectar, de manera preferentemente ipsilateral, al: 1) Núcleo Paraventricular, sobre todo desde los NPBL superior y externo; 2) Núcleo Ventromedial, principalmente desde el NPBL superior; 3) Área Preóptica medial desde el NPBL central y, en menor medida, desde los NPBL externo y NPBL dorsal; 4) Hipotálamo lateral, desde los NPBL lateral externo, medial externo, dorsolateral y el área *waist*; 5) Zona incierta, con vías procedentes del NPBL ventral; 6) Área retroquiasmática, desde los NPBL superior y dorsal. También, por último, se han descrito conexiones más difusas hacia las Áreas Suprafornical, Subfornical Tuberal y Dorsomedial hipotalámicas (Fulwiler & Saper, 1984; Bernard et al., 1991; 1993; Halsell, 1992; Alden et al., 1994; Bester et al., 1997; Hermanson et al., 1998; Dobolyi et al., 2005; Niu et al., 2010; Tokita et al., 2010; Toth et al., 2010).

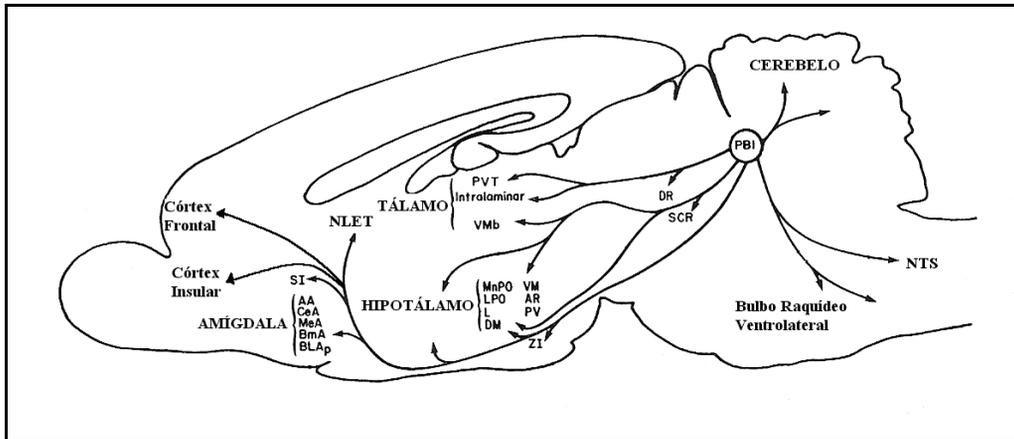


Figura 10. Representación gráfica de las fibras eferentes procedentes del Complejo Parabraquial Lateral (PBL). Abreviaturas: AA, Área Amigdalina Anterior; AR, Núcleo "Arcuate" del Hipotálamo; BmA, Núcleo Basomedial de la Amígdala; BLAp, Núcleo Basolateral Posterior de la Amígdala; CeA, Núcleo Central de la Amígdala; DM, Núcleo Dorsomedial del Hipotálamo; DR, Núcleo Dorsal del Rafe; L, Área Hipotálamica Lateral; LPO, Área Preóptica Lateral; MeA, Núcleo Medial de la Amígdala; MnPO, Núcleo Preóptico Mediano; NLET, Núcleo Lecho de la Estría Terminal; NTS, Núcleo del Tracto Solitario; Vmb, Núcleo Ventromedial Basal del Hipotálamo; PV, Núcleo Paraventricular del Hipotálamo; PVT, Núcleo Paraventricular del Tálamo; SCR, Núcleo Superior Central del Rafe; SI, Sustancia Innomiada; VM, Núcleo Ventromedial del Hipotálamo; ZI, Zona Incierta. Figura adaptada de García (2009).

En el caso del tálamo, las proyecciones parabraquiales que se dirigen hacia los Núcleos de la Línea Media (Núcleo Paraventricular y Reuniens) proceden de los núcleos parabraquiales laterales Dorsal y Externo (Saper & Loewy, 1980; Fulwiler & Saper, 1984; Halsell, 1992; Saleh & Sechetto, 1993; Krout & Loewy, 2000); las vías dirigidas hacia los Núcleos intralaminares se originan en el PNBL interno principalmente (Fulwiler & Saper, 1984; Halsell, 1992; Saleh & Sechetto, 1993; Hermanson & Blomqvist, 1997; Krout & Loewy, 2000); mientras que las eferencias dirigidas al Núcleo Caudal Ventromedial parten de los NPB Medial Externo, Lateral Ventral y Lateral Externo (Krout & Loewy, 2000). Asimismo, se han identificado proyecciones al Núcleo Suprafornical (Niu et al., 2010) y proyecciones al Núcleo Ventral Posterior parvicelular talámico, el cual procesa información gustativa, que proceden de las células que rodean al Pedúnculo Cereberoloso Superior, incluyendo los Núcleos Mediales, Waist, Lateral Ventral y Lateral Externo (Krout & Loewy, 2000; Mao et al., 2008). Por último, se ha descrito en este contexto una vía que estaría implicada en el procesamiento visceral, y que pasaría secuencialmente por el núcleo del tracto solitario, el núcleo parabraquial, el tálamo ventrobasal y la corteza insular (Saper & Loewy, 1980; Cechetto & Saper, 1987; Zhang y Oppenheimer, 2000; Seward, 2004; Mungarndee et al., 2008).

Rostralmente, otras eferencias parabraquiales terminarían en el Núcleo Lecho de la Estría Terminal, el Área Amigdalina Anterior y los núcleos Ventral, Central, Medial y Lateral de la Amígdala (Saper & Loewy, 1980; Fulwiler & Saper, 1984; Bernard et al., 1991; 1993; Halsell, 1992; Saleh & Sechetto, 1993; Alden et al., 1994; Yamamoto et al., 1994b; De Lacalle & Saper, 2000; Takeuchi et al., 2004; Dobolyi et al., 2005; Sarhan, Freund-Mercier & Veinante, 2005; Jia et al., 2005; Shin et al., 2008; Kang & Lundy, 2009; Andrade-Franzé et al., 2010a; 2010b; Davern & McKinley, 2010; Tokita et al., 2010). También se han identificado proyecciones al área de transición amigdalopiriforme (Santiago & Shammah-Lagnado, 2005). La Sustancia Innominada, por su parte, recibe proyecciones procedentes de los Núcleos Medial, Lateral Ventral y Lateral Externo (Fulwiler & Saper, 1984; Bernard et al., 1993; Alden et al., 1994).

Por último, otras proyecciones parabraquiales laterales finalizarían en el Núcleo Intersticial de la Comisura Anterior, la zona de transición límbico-olfatoria, el Núcleo Lateral del Tracto Olfatorio, el Septum Lateral Anterior, el Área Septo-Olfatoria, el ATV, el Córtex Prefrontal Medial, el Córtex Fronto-Lateral y la Corteza Insular Agranular y Disgranular (Fulwiler & Saper, 1984; Halsell, 1992; Dobolyi et al., 2005; Coizet et al., 2010; Tokita et al., 2010). Destacar que las vías eferentes parabraquiales que proyectan hacia zonas corticales proceden principalmente de los Núcleos Parabraquiales Laterales Ventral y Externo (Fulwiler & Saper, 1984; Halsell, 1992; Dobolyi et al., 2005) y entre esas áreas se encuentra la Corteza Insular, que recibe vías procedentes del Núcleo Parabraquial Lateral de forma indirecta a través del Tálamo (Lasiter, 1985; Lasiter et al., 1985; Halsell, 1992; Hashimoto et al., 2009; Scott & Small, 2009; Tokita et al., 2010) y de una vía polisináptica que incluye al Complejo Amigdalino (Yamamoto et al., 1984; Lasiter & Glanzman, 1985; Halsell, 1992; Richard et al., 2005; Scott & Small, 2009; Tokita et al., 2010).

9.6. PROYECCIONES DEL NÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO.

De especial interés para esta Tesis Doctoral son las conexiones que establece el NPBL. Este subnúcleo recibe sus principales inputs de sistemas gustativos, nociceptivos y viscerales (Bernard et al., 1994; Santiago & Shammah-Lagnado, 2005). Más concretamente, son numerosas las fibras procedentes de la parte caudal del NTS, del área postrema, y las proyecciones directas desde el nervio vago, áreas preferentemente implicadas en la transmisión de la información visceral (Fulwiler & Saper, 1984; Hermann & Rogers, 1985; Herbert et al.,

1990; Papas & Ferguson, 1990; Yamamoto et al., 1992; Kobashi et al., 1993; Herbert & Flügge, 1995; Saper, 1995b).

Las proyecciones parabraquiales hacia la sustancia innominada y la zona incierta parecen proceder principalmente de los dos tercios mediales del subnúcleo lateral externo a lo largo de la parte lateral del pedúnculo cerebeloso superior. Igualmente, tanto el hipotálamo lateral como los núcleos preóptico mediano y paraventricular reciben proyecciones de neuronas situadas dorsalmente a las células que proyectan a la sustancia innominada. También son destacables las conexiones bidireccionales que se establecen entre el núcleo central de la amígdala y los dos tercios laterales del núcleo lateral externo (Fulwiler & Saper, 1984). Estas subdivisiones del núcleo lateral externo no se distinguen, sin embargo, según criterios morfológicos o de agrupación y, por ello, no suelen considerarse como núcleos separados. En cualquier caso, buena parte de las proyecciones parabraquiales que se dirigen al área amígdalopiriforme se originan en el interior del subnúcleo parabraquial lateral externo (Santiago & Shammah-Lagnado, 2005).

9.7. NEUROQUÍMICA DEL COMPLEJO PARABRAQUIAL.

Se han identificado numerosos sistemas de neurotransmisión en el Complejo Parabraquial, algo compatible con su participación en diversas funciones de tipo gustativo, viscerosensorial y nociceptivo, entre otras (Fulwiler & Saper, 1984; Herbert et al., 1990; Bernard et al., 1994; Akil et al., 1997; Gauriau & Bernard, 2002; Chen et al., 2004; Callera et al., 2005; Oliveira et al., 2007; Kimura et al., 2008; Denbleyker et al., 2009).

Por ejemplo, se han descubierto células **colinérgicas y dopaminérgicas** entre las vías procedentes de la Subdivisión Parabraquial Lateral y que proyectan hacia estructuras troncoencefálicas tales como el bulbo raquídeo ventrolateral o el complejo nuclear trigeminal (Katayama et al., 1984; Yoshida et al., 1997; Kubo et al., 1998).

La función del neurotransmisor **GABA** en el Complejo Parabraquial ha sido relacionada con el procesamiento de información tanto nociceptiva como gustativa o visceral (Guthmann et al., 1998; Kobashi & Bradley, 1998). Se ha comprobado que la activación química de los receptores GABA (A) del Área Parabraquial Lateral incrementa la ingesta de NaCl hipertónico y de agua (Callera et al., 2005; Oliveira et al., 2007; Kimura et al., 2008). La administración de benzodiazepinas en el Complejo Parabraquial también genera un incremento en la ingesta al potenciar la valoración hedónica positiva de los estímulos gustativos (Söderpalm & Berridge,

2000). Al parecer, las neuronas parabraquiales que proyectan al NTS son de tipo GABAérgico (Len & Chan, 2001), así como las aferencias procedentes del núcleo central de la amígdala (Jia et al., 2005). En general, se piensa que en el Complejo Parabraquial se estaría produciendo habitualmente una fuerte inhibición GABAérgica mediada específicamente por receptores GABA(A) (Gutmann et al., 1998; Wu, Boyle & Palmiter, 2009).

Por otra parte, se han identificado terminales con **serotonina** entre las aferencias parabraquiales procedentes del Área Postrema (Lança & Van der Kooy, 1985) así como en algunas vías originadas en el Área parabraquial Lateral (Fay & Kubin, 2000), si bien no parecen ser muy abundantes.

Existen pocas dudas en torno a la participación de los receptores μ en el caso de las conexiones parabraquiales aferentes procedentes de la lámina I del asta dorsal medular y en las posteriores eferencias hacia la amígdala (Chamberlin et al., 1999; Mitchell et al., 2004). Internamente, el Complejo Parabraquial es muy abundante en receptores **opiáceos**, tanto μ como κ (Mansour et al., 1994; 1995; Moufid-Bellancourt, Razafimanalina & Velley, 1996; Denbleyker et al., 2009). Estos receptores, localizados a todo lo largo del Complejo, parecen estar relacionados, una vez más, con la modulación del dolor, así como con el procesamiento de la información viscerosensorial relacionada con procesos homeostáticos tales como la ingesta de alimento (Mansour et al., 1994; Ding et al., 1996; Moufid-Bellancourt, Razafimanalina & Velley, 1996; Chamberlin et al., 1999; Wilson et al., 2003; Mitchell et al., 2004; Denbleyker et al., 2009). En este sentido, se ha comprobado que la administración de agonistas μ en el Área Parabraquial Lateral provoca la activación de distintas áreas prosencefálicas, entre ellas, el Núcleo Accumbens, el Núcleo Arqueado del Hipotálamo, el Núcleo Paraventricular Talámico y el Hipocampo (Denbleyker et al., 2009), áreas que podrían estar relacionadas relacionadas con la regulación calórica, el refuerzo y la recompensa alimenticia.

La síntesis de opiáceos endógenos (dinorfinas o encefalinas) podría establecer un patrón anatómico diferencial en el Complejo Parabraquial, y así sólo se ha localizado Pre-proencefalina en los Subnúcleos Laterales Interno, Ventral y Externo y en el Núcleo KF; mientras que la Pre-prodinorfina aparece en los Subnúcleos Laterales Dorsal y Central (Hermanson & Blomqvist, 1997; Hermanson et al., 1998). Neuronas endorfinicas también han sido identificadas en las proyecciones aferentes que el NPB recibe desde el NTS (Lü et al., 2009).

La orfanina ha sido localizada en el Área Parabraquial Lateral, además de en otros muchas zonas troncoencefálicas y prosencefálicas (Neil et al., 1999; 2003). La amplia distribución cerebral de este transmisor opiáceo sugiere que podría participar en múltiples

funciones. Concretamente, este opiáceo ha sido relacionado con el control cardiovascular, el aprendizaje, la recompensa alimenticia y la nocicepción, así como en otros procesos fisiológicos y autonómicos (Akil et al., 1997; Neal et al., 1999; 2003).

Por otra parte, se han identificado otras sustancias en el Complejo Parabraquial, entre las cuales deben incluirse las prostaglandinas. Sus receptores EP3 y EP4 han sido identificados en diversos núcleos parabraquiales, especialmente en los del Área Parabraquial Lateral (Ek et al., 2000; Engblom et al., 2000; Nakamura et al., 2000).

El **glutamato** y los receptores glutamatérgicos GluR1 α han sido localizados en los Subnúcleos Laterales Central y Creciente, así como en el Núcleo KF y el Área de Waist, mientras que el receptor GluR2/3 se localiza particularmente en el NPBL Externo (Chamberlin & Saper, 1995; Guthmann & Herbert, 1999b; Hetzenauer et al., 2008). Una alta concentración de receptores NMDA aparecen en el Área Waist y, sobre todo, en el NPBL Externo (Dutschmann et al., 1998; Guthmann & Herbert, 1999a; Tanaka et al., 2006). Finalmente, se han identificado receptores AMPA en las Áreas Parabraquiales tanto mediales como laterales (Guthmann & Herbert, 1999b). De hecho, las neuronas parabraquiales que proyectan al bulbo ventromedial rostral, al núcleo dorsal del Rafé y a diversas regiones hipotalámicas utilizan ácido glutámico como neurotransmisor (Len & Chan, 1999; Lee et al., 2003; Niu et al., 2010).

Los receptores **adrenérgicos $\alpha 2$** han sido localizados en el Área Waist y en el NPBL Externo principalmente (Herbert & Flüge, 1995; Andrade et al., 2004; Wei & Pertovaara, 2006; Gasparini et al., 2009) y podrían estar relacionados con la ingesta de sodio y agua.

Por último, otros neurotransmisores que han sido identificados en el Área Parabraquial Lateral son: el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), la hormona liberadora de corticotropina, el neuropéptido W, la sustancia P, la somatostatina, la neurotensina, la colicistoquinina o la melanocortina (Kainu et al., 1993; Saleh & Cechetto, 1993; 1996; De Lacalle & Saper, 2000; Paues et al., 2006; Westberg et al., 2009; Goebel et al., 2010; Takenoya et al., 2010). Casi todos estos sistemas neuroquímicos han sido relacionados, de una manera u otra, con la modulación de la información viscerosensorial así como con los procesos de regulación homeostática.

10. FUNCIONES REGULATORIAS Y FISIOLÓGICAS RELACIONADAS CON EL COMPLEJO PARABRAQUIAL

El complejo parabraquial es una región anatómica que ha sido implicada en una gran variedad de procesos regulatorios y adaptativos, unos mecanismos imprescindibles para la vida. Concretamente, la región parabraquial ha sido relacionada con procesos tales como la respiración, la termorregulación, la ingesta de alimento y agua, la conducta sexual, la agresión, el dolor y el refuerzo, entre otros, y que serán revisados brevemente en las páginas siguientes.

Respiración

Aunque el circuito necesario y suficiente para la generación y el mantenimiento del ritmo respiratorio parece depender de las motoneuronas del bulbo rostral ventral, se han identificado neuronas en otras regiones cerebrales que podrían estar implicadas en la regulación respiratoria. En este sentido, hay que destacar el denominado Grupo Respiratorio Pontino, un conjunto de neuronas implicadas en las distintas fases respiratorias (inspiración, postinspiración, espiración, etc.) y que estaría ubicado principalmente en uno de los subnúcleos del complejo parabraquial, el núcleo de Kolliker-Fuse (Dick et al., 1994; Jiang et al., 2004; Bonis et al., 2010a; 2010b).

Existen datos anatómicos que también relacionan a la región parabraquial con el proceso respiratorio. Así, por ejemplo, este complejo pontino proyecta anatómicamente hacia los núcleos motores frénico, hipogloso y facial (Yokota et al., 2001), que inervan el diafragma, los músculos de la lengua, y la musculatura perioral, respectivamente (Chamberlin, 2004).

En general, la activación eléctrica o química de la zona parabraquial lateral facilita la inspiración, mientras que la estimulación de regiones más ventrales causa apnea y el cese inspiratorio (Chamberlin, 2004).

Termorregulación

Diversos estudios han puesto de manifiesto la implicación del área parabraquial en el proceso de termorregulación que se produce en ambientes relativamente fríos (Kobayashi & Osaka, 2003).

Más recientemente, se ha propuesto que sería la región parabraquial lateral la implicada en el mantenimiento de la homeostasis térmica a través de la regulación de los procesos de respiración, y siempre en función de las necesidades del organismo (Poon, 2009).

Regulación hidromineral

Numerosas pruebas experimentales han confirmado la participación de la región parabraquial en este proceso homeostático. Concretamente, algunos estudios han analizado los sistemas neuroquímicos implicados en la regulación de fluidos dentro de este complejo (Menani et al., 1998; 2002). Los resultados disponibles han puesto de manifiesto la relevancia de los mecanismos serotoninérgicos, GABAérgicos y adrenérgicos del área parabraquial lateral en el control de la ingesta de sodio (Menani et al., 1998; 2002; Andrade et al., 2004; Gasparini et al., 2009; Andrade-Franzé et al., 2010a; 2010b; Davern & McKinley, 2010).

Procesamiento nociceptivo

Existen múltiples sistemas termorreceptivos y nociceptivos (cutáneos y viscerales) (Gauriau & Bernard, 2002; Rinaman & Schwartz, 2004), que partiendo en paralelo desde distintas poblaciones neuronales de las astas dorsales medulares y trigeminales, proyectan hacia los centros del prosencéfalo involucrados en el procesamiento afectivo-emocional, autonómico y visceral de estas modalidades sensoriales a través de los subnúcleos parabraquiales (Bernard et al., 1991; 1994). En estos sistemas, se ha demostrado la presencia de abundantes receptores opiáceos μ (Huang et al., 1993; Mitchell et al., 2004).

La región parabraquial lateral parece ser el principal lugar de proyección de las neuronas localizadas en la lámina I del asta dorsal medular (Light et al., 1993; Slugg & Light, 1994; Bester et al., 2000; Mitchell et al., 2004; Andrew, 2010), implicadas en el procesamiento de estímulos nocivos, y que formaría parte de la llamada vía espino-parabraquial, que es considerada esencial en las adaptaciones autonómicas (cambios cardiorrespiratorios, analgésicos...) y en la génesis del componente emocional del dolor (Gauriau & Bernard, 2002).

Estas vías anatómicas terminan concretamente en las áreas parabraquiales lateral y medial externa, cuyas neuronas (50 al 70%) proyectan a la amígdala o al hipotálamo y son específicamente activadas por los estímulos nocivos (Bernard et al., 1994; Dunckley et al., 2005;

Lazovic et al., 2005). Estas neuronas parabraquiales procesan también estímulos térmicos y/o mecánicos dentro del rango de los estímulos nocivos, así como estímulos nocivos viscerales e inputs cutáneos (Dunckley et al., 2005; Lazovic et al., 2005). Todo esto sugiere una alta convergencia somato-visceral, si bien un subgrupo restringido sólo es activado selectivamente por estímulos nocivos viscerales (Bernard et al., 1994). Investigadores del Instituto Nacional de la Salud y la Investigación Médica de Francia han descubierto que la porción nociceptiva del complejo parabraquial tiene dos proyecciones principales hacia el prosencéfalo, la amígdala y el hipotálamo, y otras dos dirigidas al tronco encefálico cerebral, hacia la sustancia gris central y el bulbo ventrolateral (Bernard et al., 1994; Gauriau & Bernard, 2002).

Concretamente, la división central de la amígdala y sus conexiones insulares, pueden contribuir al procesamiento de componentes específicos de las emociones aversivas, por ejemplo, la ansiedad, el aprendizaje de evitación evocado por el miedo o la antinocicepción, así como a ajustes autonómicos propios de las situaciones peligrosas o dolorosas (Bernard et al., 1994; McDannald, 2010; Van Marle et al., 2010; Morón et al., 2010; Carlson et al., 2011).

Con respecto al hipotálamo, las proyecciones nociceptivas del complejo parabraquial terminan sobre todo en el núcleo ventromedial y, en menor medida, en las áreas retroquiasmática, periventricular, preóptica mediana y paraventricular, todo lo cual sugiere una cierta implicación en la regulación endocrina del dolor (Fulwiler & Saper, 1984; Bernard et al., 1991; 1994; Halsell, 1992; Bester et al., 1997; Dobolyi et al., 2005).

En la sustancia gris central, las proyecciones nociceptivas del área parabraquial terminan a las columnas ventrolateral, lateral y dorsomedial. Estas áreas están implicadas respectivamente en: 1) las estrategias pasivas de afrontamiento emocional (inmovilidad, hipoactividad), caracterizadas por la inhibición simpática y la analgesia a largo plazo mediada por opiáceos; 2) las estrategias de afrontamiento emocional activo, como la confrontación y la lucha, con excitación simpática y analgesia a corto plazo no mediada por opiáceos (Bernard & Bandle, 1998); y, finalmente, 3) las conductas eminentemente aversivas.

Por último y en relación con el bulbo raquídeo ventrolateral, las proyecciones nociceptivas del área parabraquial parecen estar asociadas a los cambios cardiorrespiratorios que suelen producirse en respuesta a los estímulos nocivos (Bernard et al., 1994).

En esta línea, DeSalles y colaboradores (1985) demostraron que es posible inducir analgesia mediante estimulación eléctrica de varias localizaciones parabraquiales, sugiriendo una activación de vías neurales descendentes que proyectan a la médula espinal. Igualmente, se ha demostrado que algunas de las neuronas del NPBL son sensibles a amenazas inmunológicas del tipo bacteriano (Paues et al., 2006).

Nutrición

El mantenimiento del equilibrio homeostático nutritivo supone la participación de una compleja red de sistemas neurales interrelacionados. En la actualidad, existe un cierto acuerdo en el sentido de que en la regulación de la ingesta de alimento intervienen tanto los mecanismos homeostáticos como los hedónicos (Drewnowski, 1997; Saper et al., 2002).

Con respecto a los sistemas cerebrales implicados en la **regulación homeostática** de la nutrición, se ha mantenido a lo largo de los años el modelo de dos “centros” regulatorios con acciones opuestas: el hipotálamo lateral como inductor de la ingesta y el hipotálamo ventromedial, responsable de su inhibición y de la saciedad. Así, se ha puesto de manifiesto que, tras las lesiones del hipotálamo ventromedial, los animales manifiestan una intensa hiperfagia, con la consiguiente ganancia de peso (Weingarten et al., 1985; Paes et al., 2006; Yadav et al., 2009). La estimulación eléctrica de dicho núcleo, en cambio, genera una reducción en la ingesta alimenticia (Wyrwicka & Dobrzecka, 1960; Ruffin & Nicolaidis, 1999). Por su parte, las lesiones del hipotálamo lateral mostraban un efecto opuesto, a saber, inducían en los animales un profundo rechazo hacia el alimento (Baillie & Morrison, 1963; Morley & Levine, 1983; Bernardis et al., 1990) mientras que, por el contrario, la estimulación producía hiperfagia en sujetos saciados (Delgado & Anand, 1953; Morley & Levine, 1983; Coons et al., 1965; Berridge, 1996; Berridge & Robinson, 1998).

Actualmente este modelo está considerado como excesivamente simplista, sobre todo después del descubrimiento de los circuitos y mecanismos que subyacen a la acción de la leptina, primero, y de la grelina después.

Mutaciones recesivas de los genes *ob* y *db* en ratones han dado lugar a diversos cuadros de obesidad mórbida. Los experimentos iniciales con animales parabióticos sugerían que el gen *ob* debería codificar alguna sustancia circulatoria que regularía el balance de energía mientras que el gen *db* parecía codificar su correspondiente receptor. En efecto, la clonación y caracterización del gen *ob* muestra que este gen codifica una hormona, la leptina, que es expresada sobre todo en el tejido adiposo (Zhang et al., 1994). Niveles bajos de leptina se traducen en un fuerte incremento de la ingesta de alimentos y en la correspondiente obesidad. La leptina circulante se une principalmente a las neuronas hipotalámicas del núcleo arqueado, si bien se han identificado receptores de leptina en varias zonas extrahipotalámicas y del tronco

cerebral (incluso en el propio NPBL) (Elmqvist et al., 1997; 1998; Elias et al., 2000; Scott et al., 2009).

Por su parte, la grelina presenta sus principales zonas de acción en el hipotálamo ventromedial y en el núcleo arqueado, aunque también existen receptores de grelina localizados en otros lugares, incluyendo el sistema gástrico (Meier & Gressner, 2004).

Es bien sabido que el cerebro recibe una amplia variedad de señales procedentes del tracto gastrointestinal, bien sea a través de aferencias sensoriales, bien a través del sistema circulatorio. Estas señales sensoriales de índole nutritiva se procesan, en buena parte, a través del nervio vago (X par craneal) que transmite información, por ejemplo, sobre la distensión gástrica o sobre los niveles de glucosa o lípidos de origen hepático (Havel, 2001). Estas aferencias tienen su primer relevo en el núcleo del tracto solitario, que proyecta al complejo parabraquial, y posteriormente a otras regiones rostrales como los núcleos paraventricular, dorsomedial y arqueado del hipotálamo, así como el área hipotalámica lateral, el núcleo central de la amígdala, el núcleo lecho de la estria terminal y el tálamo sensorial visceral (Saper, 2002), e incluyendo particularmente al córtex insular visceral (Saper & Loewy, 1980; Fulwiler & Saper, 1984; Saper, 2002; Zafra et al., 2002; 2003).

Pero, como se señalaba más arriba, una importante cantidad de la información gastrointestinal es transmitida a través del sistema circulatorio y probablemente detectada por alguno de los órganos circunventriculares (Johnson & Loewy, 1990), por ejemplo, el área postrema, una estructura situada fuera de la barrera hematoencefálica, y que mantiene también extensas conexiones con núcleo del tracto solitario y el núcleo parabraquial (Van der Kooy & Koda, 1983; Herbert et al., 1990; Yamamoto et al., 1992; Stein & Loewy, 2010).

Por otra parte, y con respecto a los **mecanismos hedónicos** implicados en la nutrición, existe el convencimiento general de que el factor recompensante asociado a la ingesta de comida puede estar de alguna manera relacionado con el componente de “palatabilidad” (*palatability*), esto es, el olor propio de los alimentos y su sabor (Grill & Norgren, 1978; Berridge, 1996; 2000). Los animales suelen consumir productos dulces y salados incluso en ausencia de déficits homeostáticos, mientras que, por el contrario, los animales privados suelen rechazar las sustancias ácidas o muy amargas (Ghiglieri et al., 1997). Estas conductas han sido consideradas como adaptativas, ya que por ejemplo la acidez puede significar que los alimentos están inmaduros o degradados, mientras que los sabores dulce y salado suelen indicar la presencia de nutrientes esenciales para la supervivencia. Sin embargo, parece bien establecido que el valor reforzante de un determinado sabor puede ser modificado mediante la experiencia particular de

cada uno de los animales, algo que ocurre, por ejemplo, en el aprendizaje aversivo gustativo o el aprendizaje de preferencias gustativas, modelos adquisitivos que implican diversas estructuras troncoencefálicas como el propio Complejo Parabraquial (Mediavilla et al., 2000; 2005; Zafra et al., 2002).

Así, la información gustativa sería procesada a través de dos relevos troncoencefálicos: el núcleo del tracto solitario y el área parabraquial, el último de los cuales posteriormente proyectaría hacia el tálamo gustativo, el córtex frontal lateral, el núcleo central de la amígdala así como a varios núcleos hipotalámicos, incluida el área hipotalámica lateral (Fulwiler & Saper, 1984). Esta vía se extendería, además, desde el tálamo hacia la región primaria del gusto en la ínsula (Pritchard, Hamilton, Morse & Norgren, 1986; Rolls, 1997).

De acuerdo con lo anterior, se ha comprobado que las lesiones del área parabraquial interfieren en la adquisición del aprendizaje aversivo gustativo (Yamamoto et al., 1994b; Tokita et al., 2007), más concretamente las lesiones del PBL_e (Mediavilla et al., 2000; 2005; Simón et al., 2007), un subnúcleo que también se activa en respuesta a sabores aversivamente condicionados (Sakai & Yamamoto, 1997; Yamamoto et al., 2009).

En resumen, el comportamiento nutritivo normal parece depender de la **interacción entre los mecanismos homeostáticos y hedónicos** relacionados con la alimentación. Naturalmente, los efectos recompensantes de la ingesta de alimento dependerían inicialmente del estado interno del organismo y, particularmente, de su estado de saciedad. Cuanto mayor es la privación del animal, más recompensante suele resultar el alimento, y al revés (Berridge, 1991; 1996; Carr & Papadouka, 1994; Nader et al., 1997; Schwartz, 2000). En esta cuestión, el Tronco Cerebral parece revelarse como una zona clave en la regulación energética, ya que dispone de capacidad para integrar información aferente periférica –señales de saciación- junto con información descendente relacionada con la homeostasis calórica (Schwartz, 2000). Posteriormente, la activación de la amígdala y del cortex orbitofrontal parece correlacionar con estos cambios de acuerdo con los informes subjetivos de los individuos (Zald et al., 1998; Small et al, 2001).

La región parabraquial ha sido implicada, por ejemplo, en la experiencia hedónica asociada al consumo de la sacarosa (Hajnal & Norgren, 2004; Hajnal et al., 2009). Así, se ha demostrado que las lesiones del área parabraquial inhiben la liberación de dopamina en el núcleo accumbens durante la ingesta de sacarosa, algo que, sin embargo, no sucede en ratas con lesiones talámicas gustativas. Asimismo, la actividad del complejo parabraquial, alterada en los roedores de la cepa OLETF, ha sido relacionada con la obesidad que desarrollan estos

animales y la sobreingesta crónica, especialmente de productos dulces, que manifiestan (Hajnal et al., 2009). Estos datos, en fin, apuntan hacia que el Complejo Parabraquial como un sistema de procesamiento gustativo relacionado de alguna manera con los sistemas de recompensa cerebrales.

El examen de la actividad opiácea cerebral que acompaña a la restricción calórica, y que facilita tanto la ingesta inducida por estimulación como la propia AEIC (Easterling et al., 2000), ha puesto de manifiesto la implicación de los receptores opiáceos μ y κ situados en el complejo parabraquial. Esta manipulación comportamental provoca una disminución en la actividad de los receptores μ y un incremento en los receptores κ (Carr, 1996; Wolinsky et al., 1996).

Finalmente, se ha puesto de manifiesto a través de diversos estudios comportamentales, fisiológicos y anatómicos que el complejo parabraquial mantiene una importante relación funcional con la corteza insular. Así, por ejemplo, las lesiones parabraquiales no sólo interrumpen el establecimiento del aprendizaje aversivo gustativo (Yamamoto et al., 1994b; Mediavilla et al., 2000; 2005; Simón et al., 2007; Tokita et al., 2007; Clark & Bernstein, 2009), sino que también eliminan la inmunoreactividad c-fos que normalmente se observa en la corteza insular durante los ensayos de aprendizaje (Clark & Bernstein, 2009).

11. ORGANIZACIÓN ANATÓMICA DE LA CORTEZA INSULAR

11.1. ORGANIZACIÓN INTERNA.

La corteza insular es un área cerebral de gran heterogeneidad (Flynn et al., 1999; Butti & Hof, 2010), lo que ha llevado a que su delimitación y anatomía resulte bastante confusa en la bibliografía actual. Muestra de esta confusión, en la figura 11 se representan las discrepancias actuales en cuanto a la delimitación del área gustativa insular:

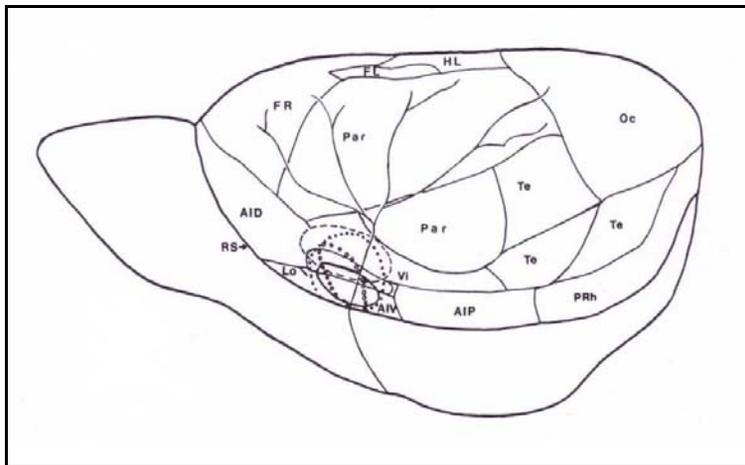


Figura 11. Distintas localizaciones insulares que han sido implicadas en el procesamiento gustativo. Las localizaciones señaladas en la figura han sido propuestas por distintos grupos de investigación como la región insular implicada en el procesamiento gustativo. Abreviaturas: AID: ínsula anterior dorsal; AIV: ínsula anterior ventral; AIP: ínsula posterior; FR: Lóbulo frontal; Par: Lóbulo parietal; TE: Lóbulo temporal; Oc: Lóbulo occipital; PRh: Córtex perirrinal; FL y HL: Áreas de control de los miembros anteriores y posteriores; Lo: Córtex orbital lateral. Figura adaptada de Braun (1990).

Los primeros estudios anatómicos sobre el córtex insular en roedores la definían como un área cortical con una extensión de 1 mm por 3 mm aproximadamente, y que estaría localizada en la zona que limita con la arteria cerebral media en su intersección con el surco rinal (Benjamin & Akert, 1959). Más concretamente, la corteza insular podría definirse como la franja de tejido cortical que se origina en el límite superior del surco rinal, y que se extiende dorsalmente hasta los bordes de las áreas somatosensoriales primaria, secundaria y el cortex piriforme. En el plano anteroposterior, se extendería unos 2 mm anteriormente a la decusación de la comisura anterior, de manera que terminaría en el borde del córtex prefrontal orbital,

mientras que en dirección caudal se extendería 1.5 mm hasta limitar con el córtex perirrinal (Cechetto & Saper, 1987).

Sobre la base de su citoarquitectura y sus conexiones subcorticales, en la mayoría de los animales de laboratorio se han distinguido tres franjas longitudinales en la corteza insular (Cechetto & Saper, 1987; Clascá et al., 1997):

(1) Área insular granular.

Es el componente más dorsal de la ínsula y, por lo tanto, se sitúa inmediatamente ventral al cortex somatosensorial. Se caracteriza por tener muy desarrollada la lámina IV. En mamíferos, se ha revelado que la organización citoarquitectónica de esta área es muy similar a la del polo frontal orbital y el temporal, lo que sugiere que estas dos regiones y la ínsula pueden funcionar (en algún caso) como una unidad (Sanides, 1968; Mesulam & Mufson, 1982; Clascá et al., 1997; Flynn et al., 1999).

(2) Área insular disgranular.

Es la zona intermedia de la ínsula, situada entre la granular y la agranular. Caudalmente, se funde de manera casi imperceptible con el córtex perirrinal. En esta área la lámina V resulta la más prominente, y aunque la lámina IV no está tan desarrollada como en el área insular granular, se pueden observar células granulosas esparcidas. Sus dimensiones son un 1 mm de ancho por 3 mm de largo, ocupando sólo un 15 % del tamaño total de la ínsula (Cechetto & Saper, 1987).

(3) Área insular agranular.

Es el área situada entre el cortex disgranular y el cortex piriforme, ocupando la parte más ventro caudal de la ínsula. Rostralmente, un área agranular dorsal, con tres claras láminas celulares (lámina II-III, V, y VI) puede distinguirse de una zona agranular ventral en la cual las láminas están pobremente definidas. Estas láminas o capas no contienen células granulares (Flynn et al., 1999). Caudalmente, esta área agranular ocupa sólo una estrecha banda en el fundus de la fisura rinal, siendo esta distinción más difícil de observar. Cechetto y Saper (1987) incluyen en esta área del cortex insular posterior una combinación de las zonas dorsal y ventral.

Además, dentro del área gustativa o anterior se pueden distinguir dos subzonas: una más rostral, implicada en el procesamiento gustativo per se, y otra más caudal relacionada con el procesamiento visceral vagal.

También el área visceral o posterior ha sido dividida en otras dos subáreas, atendiendo al tipo de respuesta que se produce tras su estimulación. La estimulación del subárea rostral o “lugar de presión” genera respuestas de hipertensión, taquicardia y movilidad gástrica, mientras que si aplicamos esta estimulación al subárea caudal o “lugar de depresión” las respuestas observadas serían un descenso en la frecuencia cardíaca y la presión arterial (Hanamori et al., 1998b).

Cabe destacar que otros autores hacen unas subdivisiones diferentes de las áreas anterior y posterior de la corteza insular (Shi & Cassell, 1998a; 1998b). Por ejemplo, Shi y Cassell (1998a) incluyen unas subdivisiones parietales en la parte posterior de esta región.

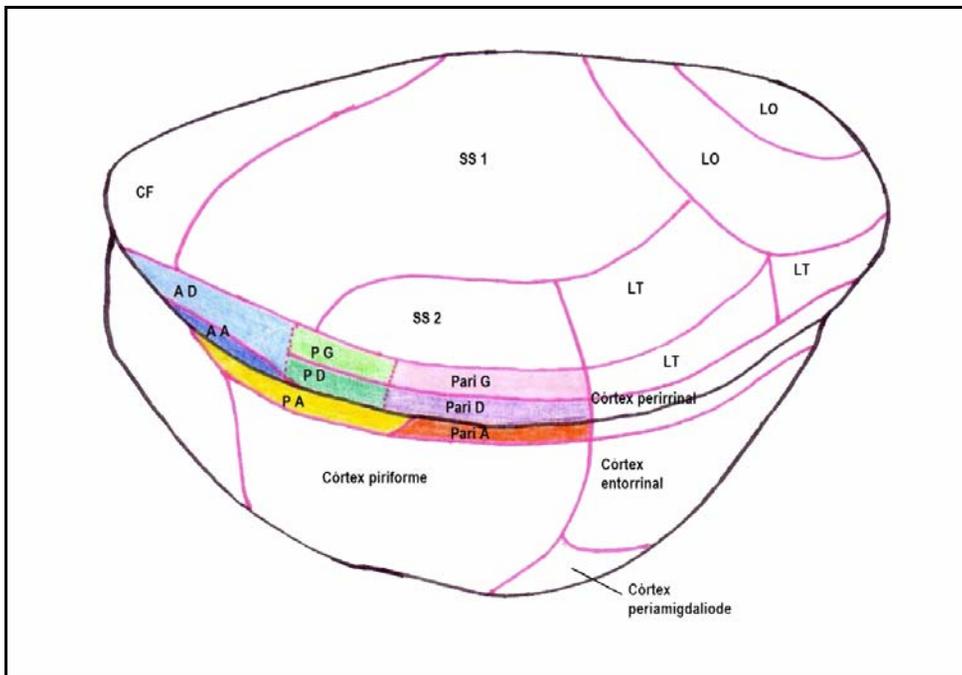


Figura 13. Representación esquemática de la superficie lateral del cortex de la ratona. Las distintas divisiones insulares establecidas por Shi & Cassell (1998a) aparecen en colores: AD, Córtez insular anterior disgranular (en azul claro); AA, Córtez insular anterior agranular (en azul oscuro); PG, Córtez insular posterior granular (en verde claro); PD, Córtez insular posterior disgranular (en verde oscuro); PA, Córtez insular posterior agranular (en amarillo); Pari G, Córtez insular parietal granular (en rosa); Pari D, Córtez insular parietal disgranular (en morado); Pari A, Córtez insular parietal agranular (en naranja). CF, Córtez frontal; SS1, Corteza somatosensorial primaria; SS2, Corteza somatosensorial secundaria; LO, Lóbulo Occipital; LT, Lóbulo Temporal. Figura adaptada de Shi y Cassell (1998a).

11.2. CONEXIONES CORTICALES.

Conexiones intrainsulares

Las conexiones entre las distintas áreas insulares son abundantes (Augustine, 1996). Con respecto a las proyecciones del **área insular posterior**, se ha descubierto que la corteza granular posterior proyecta a la región disgranular limítrofe, y ésta proyecta a su vez a todas las capas del córtex agranular y a las capas I y VI del granular. Las áreas posteriores tanto granular como disgranular envían densas proyecciones al córtex insular anterior disgranular. La corteza insular posterior agranular, por su parte, proyecta al córtex insular anterior agranular y al posterior disgranular (Shi & Cassell, 1998b; Kimura et al., 2010).

Finalmente, en la **ínsula anterior**, encontramos que la corteza disgranular proyecta al córtex agranular lateral y a las regiones insulares posteriores granular y disgranular (Shi & Cassell, 1998a).

Conexiones corticales recíprocas con la corteza insular

La mayoría de las conexiones corticales de la ínsula son recíprocas (Flynn et al., 1999). Así, las principales áreas corticales conectadas a la corteza insular son:

- La corteza somatosensorial primaria y, en menor medida, el área secundaria proyectan a lo que se denomina córtex insular parietal, un área que incluiría la parte caudal del córtex insular posterior y el cortex perirrinal anterior. Estas conexiones han sido identificadas en cerebros tanto de roedores (Augustine, 1996; Shi & Cassell, 1998a; 1998b; Kimura et al., 2010) y primates (Flynn et al., 1999), como en seres humanos (Kalani et al., 2009).
- El córtex orbital estaría conectado preferentemente con la corteza insular anterior agranular, si bien la parte lateral del córtex orbital envía sus proyecciones también a la ínsula posterior agranular (Augustine, 1996; Jasmin et al., 2004; Salem et al., 2008; Kalani et al., 2009).
- La corteza entorrinal lateral y perirrinal ventral se conecta con la ínsula agranular, anterior y posterior (Augustine, 1996; Flynn et al., 1999; Kalani et al., 2009).

- El área motora suplementaria y la corteza del cíngulo (Augustine, 1996; Flynn et al., 1999; Jasmin et al., 2004; Kalani et al., 2009) también están conectadas con la corteza insular.
- El córtex piriforme posterior, córtex periamigdalino y córtex infralímbico, están interconectados con el área agranular posterior (Augustine, 1996; Kalani et al., 2009).

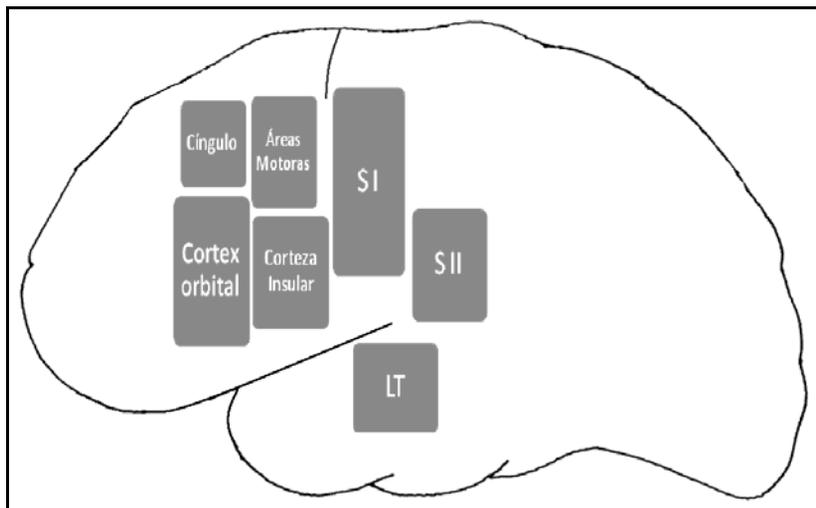


Figura 14. Representación esquemática de las principales conexiones corticales de la corteza insular. Abreviaturas: S I: Corteza somatosensorial primaria; S II: Corteza somatosensorial secundaria; LT: Lóbulo temporal.

11.3. CONEXIONES SUBCORTICALES.

Principales proyecciones aferentes

Entre las numerosas aferencias subcorticales que recibe la región insular se encuentran las procedentes de los diversos núcleos talámicos (Saper, 1995a; 2004; Négyessy et al., 1998; Nakashima et al., 2000; Desbois & Villanueva, 2001; Brooks et al., 2005). Los principales núcleos talámicos que proyectan a la corteza insular son: 1) el núcleo ventral posterior medial del tálamo, una región implicada en el procesamiento del dolor y la temperatura, proyecta a la ínsula posterior dorsal (Brooks et al., 2005); 2) Más precisamente, la parte parvicelular del núcleo talámico ventral posterior medial de la rata proyecta hacia el córtex insular, con vías que se distribuyen rostralmente en el cortex granular y caudalmente en el disgranular (Augustine, 1996; Mc Donald, 1998; Nakashima et al., 2000; Jasmin et al., 2004); 3) el núcleo ventromedial lateral, sensible a la estimulación cutánea nociceptiva, proyecta principalmente a las láminas III y IV del

córtex insular granular (Desbois & Villanueva, 2001); 4) el núcleo dorsomedial talámico está intensamente interconectado con la corteza insular agranular (Saper, 1995a; 2004; Négyessy et al., 1998). Otros de los núcleos talámicos que dirigen sus proyecciones hacia las regiones insulares son los núcleos centromediano, suprageniculado, suprageniculado medial, posterior, ventral posterior medial lateral y los núcleos centrolaterales (Cechetto & Saper, 1987; Clascá et al., 1997; McDonald, 1998; Flynn et al., 1999; De Lacalle & Saper, 2000; Nakashima et al., 2000; Zhang & Oppenheimer, 2000; Desbois & Villanueva, 2001).

Una región que envía densas eferencias hacia la corteza insular es la amígdala. Así, se han descrito proyecciones amigdalinas originadas en los núcleos corticomediales, basolaterales y laterales que se dirigen al área insular agranular posterior (McDonald & Jackson, 1987; McDonald, 1991). La región de transición amigdalopiriforme proyecta hacia la región caudal de esta misma área (McDonald & Jackson, 1987; McDonald et al., 1999; Santiago & Shammah-Lagnado, 2005). Asimismo, se han descrito conexiones procedentes de la amígdala extendida hacia la corteza insular agranular ventral (McDonald et al., 1999).

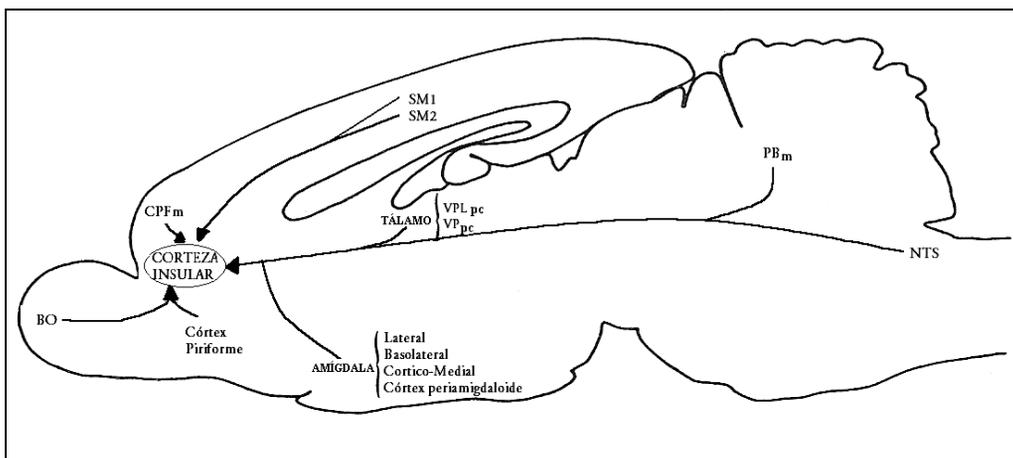


Figura 15. Esquema representativo de las principales conexiones anatómicas aferentes que recibe la Corteza Insular de distintas estructuras cerebrales. Abreviaturas: BO, Bulbo Olfatorio principal; CPFm, Córtex Prefrontal Medial; NTS, Núcleo del Tracto Solitario; PBm, Núcleo Parabraquial Medial; SM1, SM2, Córtex Somatosensorial Primario y Secundario, respectivamente; VPLpc, Núcleo Ventral posterior medial Lateral parvicelular del Tálamo; VPpc, Núcleo Ventral posterior medial Parvicelular del Tálamo. Figura adaptada de García (2009).

Por último, también se ha demostrado la existencia de proyecciones troncoencefálicas (procedentes tanto del complejo parabraquial como del bulbo raquídeo ventrolateral caudal) que finalizan en la corteza insular (Yasui et al., 1989; Cobos et al., 2003; Zhang et al., 2011).

Principales proyecciones eferentes

La corteza insular granular proyecta hacia el estriado dorsal, mientras que las proyecciones de la región insular agranular se dirigen al estriado ventral, sobre todo hacia el núcleo accumbens (Chikama et al., 1997; Fudge et al., 2005; Kimura et al., 2010), en el cual se superponen las proyecciones insulares, talámicas y amigdalinas (Wright & Groenewegen, 1996).

Sin embargo, es el tálamo una de las estructuras que mayor número de proyecciones recibe de la corteza insular, ipsilateral y contralateralmente (Négyessy et al., 1998). Las proyecciones de la corteza insular posterior granular terminan en el núcleo ventral posterior lateral (más concretamente, en la parte lateral medial de su división parvicelular) (Lasiter et al., 1985; Shi & Cassell, 1998a), mientras que la corteza insular disgranular proyecta sobre todo a su parte medial (Cechetto & Saper, 1987). Asimismo, la corteza insular disgranular envía sus proyecciones al núcleo centromediano y a la parte ventromedial del núcleo dorsomedial. La corteza insular agranular está conectada con los núcleos dorsomedial, ventromedial y parafascicular, tanto en primates como en felinos (Saper, 1982; Clascá et al., 1997).

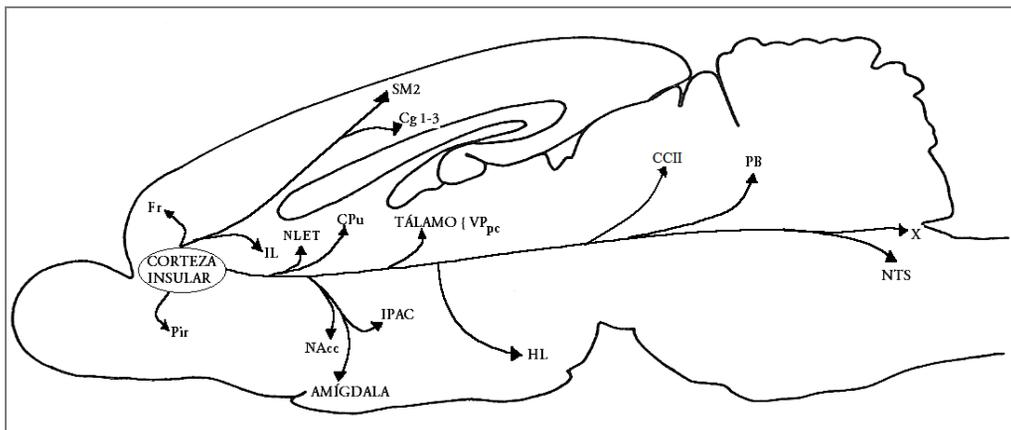


Figura 16. Esquema representativo de las principales conexiones anatómicas eferentes que mantiene la Corteza Insular con distintas estructuras cerebrales. Abreviaturas: CCII, Colículos Inferiores; Cg, Córtex Cingulado; CPu, Caudado Putamen; Fr, Córtex Frontal; HL, Hipotálamo Lateral; IL, Córtex Infralímbico; IPAC, Núcleo Intersticial del Miembro de la Comisura Anterior; NAcc, Núcleo Accumbens; NTS, Núcleo del Tracto Solitario; NLET, Núcleo Lecho de la Estria Terminal; PB, Núcleo Parabraquial; Pir, Córtex Piriforme; SM2, Córtex Somatosensorial Secundario; VPpc, Núcleo Ventro-Posterior Parvicelular del Tálamo; X, Décimo Par Craneal (Vago). Figura adaptada de García (2009).

El hipotálamo, por su parte, recibe proyecciones procedentes de la corteza insular (Öngür y Price, 1998; Flynn et al., 1999; Otake & Nakamura, 2003) y concretamente del estrato V de la corteza insular disgranular y agranular, desde donde se originan densas proyecciones hacia su parte posterior (Allen & Cechetto, 1992, citado en Otake & Nakamura, 2003). Estas aferencias hipotalámicas procedentes de la ínsula agranular son menos abundantes en los primates y, en cualquier caso, están dirigidas principalmente al hipotálamo lateral posterior (Öngür & Price, 1998; Flynn et al., 1999).

El córtex insular posterior disgranular proyecta de manera intensa al complejo amigdalino, sobre todo a la división lateral del núcleo central, la parte dorsolateral del núcleo lateral y la parte lateral del núcleo basolateral posterior (Yamamoto et al., 1984; McDonald, 1998; Shi & Cassell, 1998a; 1998b). En el caso de la corteza insular anterior, sus eferencias se dirigen también a la parte rostral del núcleo lateral, al núcleo basolateral anterior y, con menor densidad, a la cara rostral del núcleo central (McDonald, 1998; Shi & Cassell, 1998a). En este circuito anatómico, se ha descrito una proyección GABAérgica desde el núcleo central amigdalino al complejo parabraquial, tanto a su división medial como a la lateral (Jia et al., 2005). Finalmente, Shi y Cassell (1998b) han identificado una vía implicada en el procesamiento de inputs somatosensoriales y que transmitiría la información de manera secuencial por el córtex somatosensorial, el cortex insular parietal y el núcleo basolateral de la amígdala.

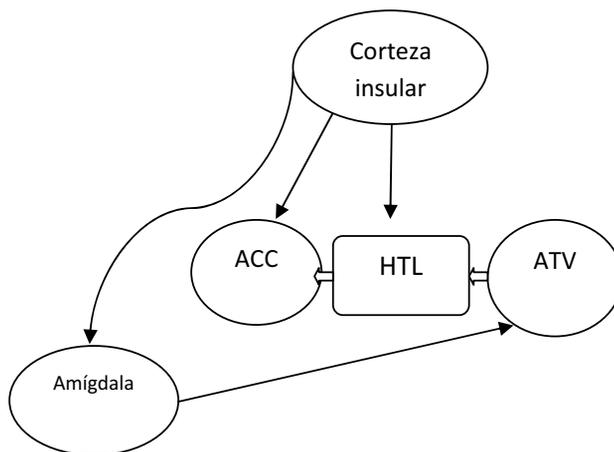


Figura 17. Las extensas proyecciones eferentes de la ínsula dirigidas a estructuras caudales sugieren que esta área cortical podría sustentar un mecanismo de control o de feedback sobre los circuitos anatómicos implicados en el procesamiento de estímulos reforzantes y aversivos. Abreviaturas: ACC: Núcleo Accumbens; ATV: Área Tegmental Ventral; HTL: Hipotálamo lateral.

Se han descrito proyecciones insulares dirigidas al núcleo accumbens (McDonald, 1991; Wright & Groenewegen, 1996; Chikama et al., 1997; Fenu et al., 2001; Kelley et al., 2002; Jasmin et al., 2004; Reynolds & Zahm, 2005). Concretamente, existirían conexiones directas entre la cápsula (*shell*) del núcleo accumbens y la región medial del cortex insular, y también entre la zona interna (*core*) del núcleo accumbens y la corteza insular agranular posterior (Reynolds & Zahm, 2005).

Por último, existen proyecciones insulares dirigidas a regiones caudales, tales como el colículo inferior, que recibe vías eferentes procedentes de la región caudal del cortex insular granular (Kimura et al., 2010). También el núcleo parabraquial y el locus coeruleus reciben vías procedentes de la ínsula (Saper, 1982; Moga et al., 1990; Flynn et al., 1999; Jasmin et al., 2004). Concretamente, proyecciones eferentes originadas tanto en la corteza insular agranular posterior (Otake & Nakamura, 2003) como en el cortex insular granular y disgranular (Hayama & Ogawa, 2001) terminan en la zona gustativa del núcleo del tracto solitario.

11.4. NEUROQUÍMICA DE LA CORTEZA INSULAR.

Como no podía ser menos, en una región cortical tan amplia se han localizado e identificado una gran mayoría de los sistemas neuroquímicos de transmisión. Así, en la corteza insular se ha detectado la presencia de receptores **5-HT_{1A}**, que han sido relacionados con distintos procesos cognitivos y emocionales (Palchadhuri & Flüge, 2005).

Los receptores **gabaérgicos** han sido situados en las regiones granular y disgranular, y podrían estar relacionados con el procesamiento gustativo, entre otras funciones (Ogawa et al., 1998; Berman, 2003).

Uno de los sistemas de neurotransmisión más estudiados en la corteza insular es el **colinérgico**. La actividad colinérgica en esta región ha sido relacionada también con el procesamiento de estímulos gustativos (Shimura et al., 1995), especialmente los de carácter novedoso (Miranda et al., 2000; 2003). Es más, se ha constatado que el bloqueo de la actividad colinérgica produce un déficit en la codificación de los sabores, concretamente durante el desarrollo del aprendizaje aversivo gustativo (Naor & Dudai, 1996; Miranda et al., 2003).

Una vez más, los receptores **glutamatérgicos NMDA y AMPA**, presentes en esta región, también han sido implicados en el desarrollo de los aprendizajes gustativos (Berman, 2003).

Por último, se ha observado una alta densidad de receptores **opiáceos mu** en la corteza insular agranular, los cuales parecen estar localizados fundamentalmente en las arborizaciones dendríticas de esta zona. También existe una elevada concentración de receptores **kappa**, fundamentalmente en la zona disgranular (Mansour et al., 1994; Burkey et al., 1996; Izenwasser et al., 1999). Una vez más y siempre muy relacionado con el sistema opiáceo endógeno, aparece el sistema **dopaminérgico** presente en esta zona (Berman, 2003) y actuando, sobre todo, a través de receptores D2 (Hurd et al., 2001).

12. FUNCIONES DE LA CORTEZA INSULAR

La corteza insular es un área que ha sido implicada en una gran variedad de procesos funcionales que van desde la regulación de funciones autonómicas básicas (Cechetti & Saper, 1987; Zhang & Oppenheimer, 2000) hasta el procesamiento emocional, entre otras muchas (Shin et al., 2000; Peyron et al., 2000). Sin embargo y de acuerdo con los objetivos de esta Tesis Doctoral se pueden mencionar los siguientes:

Procesamiento gustativo

A partir de sus conexiones recíprocas con la región parvicelular del núcleo talámico ventral posterior medial, la región gustativa del tálamo (Lasiter et al., 1985; Kinomura et al., 1994; Small et al., 1999; Nakashima et al., 2000; Jasmin et al., 2004), muchos autores han investigado la implicación de la corteza insular en este sistema sensorial (Hanamori et al., 1998a; 1998b; Yefet et al., 2006) así como su relación con otros procesos de índole, por ejemplo, adquisitiva y cognitiva. En seres humanos, la administración, por ejemplo, de una solución salina induce la activación de la corteza insular izquierda (Kinomura et al., 1994), curiosamente la misma región cortical insular implicada en el procesamiento olfatorio (Zatorre et al., 1992; Veldhuizen et al., 2010), una interacción que podría explicar la *palatabilidad*, un constructo relacionado con las propiedades hedónicas y el valor reforzante de los alimentos. Esta actividad insular estaría en función, sin embargo, del estado nutritivo de las personas, es decir, de su estado de privación o saciación (Gautier et al., 1999), un factor que determinaría la valoración hedónica de una ingesta determinada. Otros estudios, sin embargo, utilizando técnicas de neuroimagen, sitúan esta área

de integración gustativa-olfativa en el hemisferio derecho preferentemente (Small et al., 1999; de Araujo et al., 2003).

En este sentido, los animales suelen desarrollar aversiones generalmente más intensas cuando se utiliza como estímulo una combinación de olor y sabor, excepto cuando la ínsula está lesionada, en cuyo caso el sabor no potencia el aprendizaje aversivo hacia el olor (Lin et al., 2009).

Existe el convencimiento de que también en seres humanos la ínsula anterior representa el área cortical gustativa primaria por excelencia (Small et al., 1997; 1999; Pritchard et al., 1999; Sowards & Sowards, 2001), mientras que el córtex orbitofrontal caudolateral constituiría el área gustativa secundaria. Small y colaboradores (1997), tras analizar los patrones de respuesta al sabor, han propuesto que el área insular anterior parece ser una región esencial en el procesamiento de las sensaciones gustativas y, más concretamente, en la detección de la intensidad del sabor (Pritchard et al., 1999). Sin embargo, este reconocimiento de los sabores sólo es posible a partir de la integración de la información gustativa con las distintas redes neurales motivacionales y hedónicas implicadas en la alimentación, y que incluirían también la participación de estructuras tales como la amígdala y el lóbulo temporal (Pritchard et al., 1999).

En este contexto, la corteza insular ha sido implicada en la adquisición y mantenimiento del aprendizaje aversivo gustativo (Cubero et al., 1999; Flynn et al., 1999; Sakai & Yamamoto, 1999; Escobar & Bermúdez-Rattoni, 2000; Yamamoto, 2007; Purón-Sierra et al., 2010; Ma et al., 2011). Las conexiones eferentes originadas en la zona agranular de la ínsula y que proyectan al núcleo del Tracto Solitario, algunas de ellas a través de la amígdala, son necesarias, según algunos autores, para la expresión del aprendizaje aversivo gustativo (Schafe & Bernstein, 1998). Dentro de esta modalidad de aprendizaje se ha detectado una activación conjunta del NTS, el núcleo parabraquial, el subnúcleo central amigdalino, el complejo basolateral de la amígdala, así como del cortex insular (Koh & Bernstein, 2005). La participación de la corteza insular dependería funcionalmente de la novedad del sabor utilizado como estímulo condicionado (Koh & Bernstein, 2005), mientras que el núcleo basolateral amigdalino sería responsable, mediante potenciación a largo plazo sobre el cortex insular, de la retención del aprendizaje aversivo gustativo (Escobar & Bermúdez-Rattoni, 2000).

Procesamiento visceral

Estudios neuroanatómicos en roedores y humanos han revelado que la información de índole visceral alcanza la corteza insular siguiendo una trayectoria secuencial a través del núcleo del tracto solitario, el núcleo parabraquial y el tálamo ventrobasal, aunque también se han descrito conexiones directas desde el propio núcleo parabraquial (Cechetto & Saper, 1987; Yasui et al., 1989; De Lacalle & Saper, 2000). Así, por ejemplo, una integración de inputs barorreceptores y somatosensoriales ocurre ya a nivel del citado núcleo talámico (Zhang & Oppenheimer, 2000). Igualmente, regiones cardiovasculares de la corteza insular y del tálamo ventrobasal podrían estar relacionadas con las manifestaciones autonómicas y afectivas que provocan los estímulos dolorosos (Hecht et al., 1999; Zhang et al., 1999; Zhang & Oppenheimer, 2000). La representación cardiovascular en la ínsula ha sido situada en la corteza posterior, si bien otras investigaciones han revelado una cierta activación en áreas de la ínsula anterior derecha (Zhang & Oppenheimer, 1997).

Las células implicadas en el procesamiento de las distintas modalidades viscerales se sitúan dorsal y posteriormente en el córtex insular granular. Sin embargo, mientras las zonas de procesamiento de los mecanorreceptores gástricos se localizan dorsal y posteriormente en el córtex insular granular, los inputs cardiopulmonales lo hacen en áreas más ventrales y posteriores (Cechetto & Saper, 1987). También se han localizado inputs gástricos en algunas zonas insulares agranulares y disgranulares (Aleksandrov et al., 1996). Y, al revés, estos mismos autores han demostrado también que la estimulación eléctrica del córtex insular puede evocar cambios en el tono gástrico.

Procesamiento nociceptivo

Un primer indicio de la implicación de la ínsula en el procesamiento nociceptivo se deduce a partir de las proyecciones talámicas que proyectan al córtex insular granular ipsilateral (Cechetto & Saper, 1987; Desbois & Villanueva, 2001).

Las neuronas del cortex insular posterior son sensibles a estímulos dolorosos, como el simple pinzamiento de la cola de los roedores (Hanamori et al., 1998a; 1998b). También se ha observado activación insular tras la aplicación de estímulos viscerales nociceptivos (Lazovic et al., 2005). Estos datos sugieren la existencia de una cierta convergencia de inputs nociceptivos

somáticos y viscerales en la corteza insular (Ito, 1998), que estarían, al parecer, somatotópicamente organizados en el cerebro humano (Brooks et al., 2005).

A través de técnicas de neuroimagen se ha localizado la percepción de dolor agudo en el córtex insular anterior, en la mayoría de los casos bilateralmente (Oshiro et al., 1998; Peyron et al., 2000). Aunque esta región parece codificar estímulos térmicos no nocivos, se observa un marcado incremento de la actividad cuando estos estímulos alcanzan el umbral doloroso (Peyron et al., 2000; Ogawa & Wang, 2002). Más aún, Inui y colaboradores (2003) revelan que si bien la respuesta a estímulos somatosensoriales táctiles y dolorosos es similar en las áreas corticales somatosensoriales, la estimulación dolorosa provoca una activación diferencial en la corteza insular. Esto es, la corteza insular en su parte anterior podría estar más implicada en el procesamiento de la información somatosensorial dolorosa (Treede et al., 2000; Inui et al., 2003), mientras que la ínsula posterior se relacionaría en mayor medida con el procesamiento de la información somatosensorial táctil.

Por otra parte, las regiones corticales insulares también han sido implicadas en procesos de inducción de analgesia. Así, el alivio del dolor inducido mediante la estimulación eléctrica del tálamo somatosensorial (núcleos ventroposterior lateral y medial) parece provocar también la activación de la corteza insular ipsilateral (Duncan et al., 1998). De hecho, la región insular agranular ha sido relacionada particularmente con la antinocicepción inducida mediante morfina (Burkey et al., 1996).

Algunos autores han propuesto que la corteza insular podría estar implicada particularmente en el componente afectivo del dolor (Zhang et al., 1999; Treede et al., 2000; Inui et al., 2003), sobre todo teniendo en cuenta sus múltiples conexiones con el sistema límbico (Morgane & Mokler, 2006). En este sentido, se ha demostrado que lesiones del córtex insular anterior provocan un síndrome de asimbolia dolorosa y, como consecuencia de ello, un incremento de la tolerancia dolorosa (Greenspan et al., 1999).

Integración de inputs sensoriales y procesamiento emocional

Al igual que el complejo parabraquial, la corteza insular ha sido relacionada con diversos procesos aversivos y reforzantes (Phan, Wager, Taylor & Liberzon, 2002), algo que sería explicable en función de la notable convergencia de inputs que se produce en esta región (Hanamori et al., 1998a; 1998b; Kimura et al., 2010; Ibañez et al., 2010), así como por sus

conexiones con el sistema límbico (Morgane & Mokler, 2006). De hecho, muchos autores han destacado la correlación existente entre la activación insular y los informes subjetivos relacionados con sentimientos, tales como la felicidad, el asco, el enfado, la ansiedad, la tristeza o la culpa (Liotti et al., 2000; Shin et al., 2000; Phan et al., 2002; Murphy et al., 2003; Marci et al., 2007; Stein et al., 2007; Cerqueira et al., 2008; Harrison et al., 2008; Takahashi et al., 2008). En esta zona cortical podría producirse una integración de información que finalmente permita generar distintos estados de índole afectiva (Zhang et al., 1999; Peyron et al., 2000; Zhang & Oppenheimer, 2000; Craig, 2002; 2009; 2010; Garavan, 2010; Ibañez et al., 2010), en los que podrían ser relevantes sus conexiones con el complejo parabraquial (Bechara, 2004).

En esta línea, estudios con técnicas de neuroimagen han puesto de manifiesto la activación de la ínsula humana durante el desarrollo de juegos de azar, una observación que incluye la participación de procesos complejos, tales como la anticipación de recompensas o castigos en función de las elecciones realizadas (Elliot, Friston & Dolan, 2000; Liu et al., 2007). Sin embargo, los resultados no son concluyentes en lo referente a su participación en el establecimiento de la valencia hedónica, ya que mientras algunos estudios la relacionan con el procesamiento de los componentes tanto recompensantes como aversivos - por ejemplo, ganar o perder una apuesta -, otros autores la implican solamente en los aspectos más aversivos del juego, tales como la anticipación de castigos o pérdidas, o la valoración de las elecciones erróneas llevadas a cabo (Liu et al., 2007).

Finalmente, en pacientes con daño insular se han observado déficits relacionados incluso con la consciencia del propio cuerpo, manifestando síntomas patológicos tales como alucinaciones somáticas o somatoparafrenia (Roper et al., 1993; Karnath et al., 2005; Karnath & Baier, 2010).

¿Drogadicción?

Estudios llevados a cabo con pacientes adictos a las diversas sustancias de abuso (heroína, cocaína, nicotina, marihuana o alcohol) han puesto de manifiesto una cierta correlación entre la activación de la corteza insular y los sentimientos de *craving* o ansia/urgencia por volver a consumir la citada sustancia (Wang et al., 1999a; Sell et al., 2000; Brody et al., 2002; Tapert et al., 2004; Naqvi & Bechara, 2009; Filbey et al., 2009). Esta hiperactividad cortical siempre se produce en paralelo con la de otras estructuras límbicas, como la amígdala, el estriado ventral o el cíngulo anterior (Childress et al., 1999; Brody et al., 2002; Tapert et al., 2004; Filbey et al.,

2009; Garavan, 2010). Estudios experimentales recientes con lesiones insulares, tanto en animales (Contreras et al., 2007; Forget et al., 2010) como en humanos (Naqvi et al., 2007), parecen apoyar estos resultados iniciales. Así, las personas con lesiones insulares dejan de fumar sin manifestar la necesidad de volver a hacerlo y, además, sin sufrir recaídas (Naqvi et al., 2007). En esta línea, varios estudios realizados con animales han demostrado que la desactivación temporal de la corteza insular suprimía también en los animales adictos la necesidad de buscar y consumir diversas drogas de abuso, como la nicotina o las anfetaminas (Contreras et al., 2007; Forget et al., 2010).

Naqvi y Bechara (2009) han propuesto que la ínsula constituiría el sustrato neural en el que se representan los efectos interoceptivos de las drogas de abuso, y que además sería el lugar donde se transforman en sentimientos de placer consciente. Conforme se desarrolla la adicción, los estímulos asociados a las drogas pueden adquirir un gran poder de incentivo, generando así el *craving*, cuyo sustrato neural también parece implicar a la corteza insular (Wang et al., 1999a; Sell et al., 2000; Brody et al., 2002; Tapert et al., 2004; Filbey et al., 2009; Naqvi & Bechara, 2009). Esta información se transmitiría posteriormente a las áreas implicadas en el inicio y vigorización de las conductas motivadas (como el núcleo accumbens) siempre a través de proyecciones excitatorias procedentes de la corteza insular (McDonald, 1991; Wright & Groenewegen, 1996; Chikama et al., 1997; Fenu et al., 2001; Kelley et al., 2002; Jasmin et al., 2004; Reynolds & Zahm, 2005).

Más aún, la participación de la región insular en la sensación de *craving* no parece ser específica al ámbito de las drogas de abuso (Garavan, 2010), ya que impulsos naturales, biológicamente relevantes, como el hambre, la sed o la excitación sexual también inducen una consistente activación insular (Tataranni et al., 1999; Egan et al., 2003; Gizewski et al., 2006; Porubská et al., 2006; Hu et al., 2008; Zhu et al., 2010), lo cual permite atribuir a esta región cortical una función interoceptiva más general (Naqvi & Bechara, 2009; Craig, 2010).

OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN

Como se ha puesto de manifiesto a lo largo de esta introducción, a veces la estimulación eléctrica de una misma área cerebral puede generar efectos de carácter tanto reforzante como aversivo (Olds & Milner, 1954; Kiser et al., 1978a; 1978b; Carr et al., 1982; Depoortere et al., 1990a; 1990b; Gomita et al., 1991; 2003; Anderson et al., 1995; Melo & Brandao, 1995; Diotte et al., 2000; 2001), un hecho que sugiere la existencia de una estrecha interrelación entre los sistemas neurales implicados en el procesamiento de estímulos apetitivos y aversivos (Hoebel, 1976; Salamone, 1994; Anderson et al., 1995; Brandao et al., 1999; Robbins & Everitt, 1999; O'Doherty et al., 2001). El sustrato neuroanatómico que subyace al refuerzo coincidiría de alguna manera dentro de determinadas áreas cerebrales con los mecanismos responsables del procesamiento aversivo (Carr & Wolinsky, 1993; Carr, 1996; Carr et al., 2010). Así, se ha comprobado, por ejemplo, que el ATV, la cápsula del núcleo accumbens o la corteza prefrontal medial pueden constituir simultáneamente el sustrato de procesos motivacionales tanto apetitivos como aversivos (Salamone, 1994; Small et al., 2001; Reynolds & Berridge, 2002; Ventura, Morrone & Puglisi-Allegra, 2007; Brischoux et al., 2009).

En esta línea, resultados previos en nuestro laboratorio sugieren que también en el Complejo Parabraquial (y más concretamente en el NPBL) podría procesarse información de carácter tanto apetitivo como aversivo (Mediavilla et al., 2000; Zafra et al., 2002; García, 2009). Esta Tesis se ha centrado inicialmente en el estudio de esta región pontina y en el análisis de los mecanismos implicados en los dos procesos motivacionales mencionados, aversión y refuerzo.

Estudios realizados en nuestro laboratorio en torno al Aprendizaje Aversivo Gustativo han establecido la existencia de dos modalidades de aprendizaje teórica y procedimentalmente diferentes y que han sido denominados concurrente y secuencial. Con respecto al aprendizaje secuencial (o a largo plazo), los animales reciben en una primera sesión un estímulo gustativo que posteriormente es asociado con la administración de una sustancia nociva/aversiva (por ejemplo, CILi); en una segunda sesión, se ofrece, tras un intervalo de tiempo variable, un nuevo

estímulo gustativo que es seguido de la inyección de suero fisiológico isotónico. Este ensayo, compuesto por dos sesiones, puede repetirse en alguna ocasión más si así se considera oportuno para intensificar el aprendizaje. Este proceso implica finalmente una prueba de discriminación gustativa en la que los animales pueden elegir entre los dos estímulos gustativos presentados. Se ha propuesto que esta modalidad de aprendizaje cumple los requisitos característicos de los aprendizajes explícitos (Mediavilla et al., 2005). Por su parte, en la modalidad de aprendizaje concurrente (o a corto plazo) los animales disponen, en cada ensayo, de ambos estímulos gustativos al mismo tiempo, de manera que la ingesta de uno de ellos implica la administración simultánea de una sustancia aversiva (por ejemplo, cloruro sódico hipertónico o sulfato de cobre) mientras que el consumo del otro estímulo conlleva la inyección de suero fisiológico. Estos ensayos han de repetirse un número determinado de días (aproximadamente cinco) en los que progresivamente los animales se van decantando por el estímulo gustativo "correcto" (asociado a suero fisiológico). Se ha sugerido que esta modalidad concurrente se ajusta a las características de los aprendizajes implícitos (Mediavilla et al., 2005).

Además, estas dos modalidades de aprendizaje parecen sustentarse sobre ejes víscero-cerebrales anatómicamente diferenciados pero que incluyen el procesamiento de información visceral de carácter tanto reforzante como aversivo (Arnedo et al., 1990; 1993; Gallo et al., 1990; 1991; Agüero et al., 1993a; 1993b; 1997; Mediavilla et al., 1999; 2000; Cubero & Puerto, 2000; Cubero et al., 2001; Zafra et al., 2002; Simón, 2003; Simón et al., 2007; 2008; 2009). Uno de estos ejes anatómicos sería el constituido por el Nervio Vago, el NTS, el NPB medial y el NPBL externo (Fulwiler & Saper, 1984; Agüero et al., 1997; Mediavilla et al., 2000; Zafra et al., 2002; Simón et al., 2007; 2008; 2009), implicado en aprendizajes concurrentes o a corto plazo. El funcionamiento del otro sistema neurobiológico requeriría de la integridad del Área Postrema, el Área Parabraquial Lateral y el NPBM externo, y estaría relacionado con el aprendizaje secuencial o a largo plazo (Ritter et al., 1980; Gallo et al., 1988; 1991; Cubero & Puerto, 2000; De la Torre & Agüero, 2009).

A partir de estos datos se ha considerado al Complejo Parabraquial como un relevo esencial en el procesamiento de la información viscerosensorial hacia estructuras encefálicas rostrales (Fulwiler & Saper, 1984; Herbert et al., 1990; Moga et al., 1990; Halsell, 1992; Kobashi et al., 1993; Saleh & Cechetto, 1993; Bernard et al., 1994; Yamamoto et al., 1994b; Saper, 1995b; De Lacalle & Saper, 2000; Karimnamazi et al., 2002). Dentro de este complejo anatómico, el NPBL ha sido implicado en procesos de índole aversiva, como con el aprendizaje aversivo gustativo (Yamamoto et al., 1992; 1994b; Sakai & Yamamoto, 1998; Mediavilla et al., 2000) o la transmisión de ciertos componentes nociceptivos (Bernard et al., 1991; 1994; 1995;

Light et al., 1993; Bester et al., 1995; 1997; Saper 1995a; Jasmin et al., 1997), pero también en el procesamiento de información de carácter reforzante, relacionado con la regulación de la ingesta alimenticia (Li et al., 1994; Ritter, 1994; Yamamoto et al., 1994a; Monroe & Di Lorenzo, 1995; Hoebel, 1997; Wang et al., 1999b; Reilly & Trifunovic, 2000a; 2000b; Yamamoto & Sawa, 2000a; 2000b). Así, se ha demostrado que lesiones localizadas en este subnúcleo parabraquial impiden la adquisición tanto de preferencias como de aversiones gustativas cuando se utilizan procedimientos de aprendizaje concurrente (Mediavilla et al., 2000; Zafra et al., 2002). Más aún, investigaciones recientes han demostrado que la estimulación eléctrica del NPBL constituyere un estímulo eficaz para inducir conductas tanto de preferencia como de aversión hacia un lugar (Hurtado et al., 2006; Simón et al., 2007; 2008; 2009; García, 2009).

En conjunto, estos estudios sugieren que las modalidades de aprendizaje gustativo concurrente y secuencial pueden establecerse también utilizando distintas modalidades dentro del mencionado condicionamiento de preferencias por un lugar. Así, en el caso del aprendizaje secuencial, uno u otro de los dos entornos (o compartimentos) del laberinto es asociado a un tratamiento u otro (en días alternos), de modo que la mitad de las sesiones de adquisición quedarán asociadas a un tipo de intervención biológica y la otra mitad a una situación control. Por su parte, en el procedimiento concurrente (implícito), el animal tiene a su disposición en cada sesión de aprendizaje los dos entornos estimulares (compartimentos). Esto es, el animal puede permanecer en uno de los compartimentos donde simultáneamente recibirá, por ejemplo, estimulación eléctrica intracerebral o, por el contrario, puede trasladarse al otro compartimento, donde no será sometido a ningún tratamiento (situación control). La capacidad de la estimulación eléctrica del NPBL para inducir conductas de preferencia o aversión por un lugar ha sido estudiada previamente utilizando tareas de tipo concurrente (Hurtado et al., 2006; Simón et al., 2007; 2008; 2009; García, 2009). Sin embargo, los procedimientos secuenciales son los habituales en los estudios sobre las propiedades reforzantes de las drogas de abuso (MacKey & Van der Kooy, 1985; MacKey, Sèller & Van der Kooy, 1986; Leone & Di Chiara, 1987; Bilsky et al., 1990; Suzuki & Misawa, 1995; Olmstead & Franklin, 1996; Maldonado et al., 1997; Xu, Wang, Wu & Pei, 2001; Rezayof et al., 2002; 2003; Duarte et al., 2003; Milekic, Brown, Castellini & Alberini, 2006). Existen, sin embargo, pocos datos sobre la capacidad de inducir aversión hacia un lugar mediante este procedimiento secuencial (Bechara & Van der Kooy, 1987; Bechara, Zito & Van der Kooy, 1987; Bechara, Martin, Pridgar & Van der Kooy, 1993); los estudios sobre las propiedades aversivas de las drogas de abuso suelen llevarse a cabo a través de tareas de aprendizaje gustativo (Bechara et al., 1993; Davis, Rice & Riley, 2009; Liu, Showalter & Grigson, 2009). En este sentido, analizar

la posibilidad de establecer aprendizajes de preferencia y aversión por un lugar sustentados por estimulación eléctrica del NPBL mediante procedimientos secuenciales va a ser uno de los objetivos de esta Tesis.

Por otra parte, a lo largo de esta introducción se ha destacado la estrecha relación anatómica y funcional existente entre el Complejo Parabraquial y la Corteza Insular (Saper & Loewy, 1980; Fulwiler & Saper, 1984; Cechetto & Saper, 1987; Yasui et al., 1989; Ito, 1992; Bernstein, 1999; Zhang & Oppenheimer, 2000; Zhang et al., 2011). La Corteza Insular es un área que ha sido relacionada con el procesamiento de información tanto reforzante como aversiva. Por ejemplo, esta región ha sido relacionada tanto con la adquisición y retención del aprendizaje aversivo gustativo (Cechetto & Saper, 1987; Yamamoto et al., 1989; Sakai & Yamamoto, 1999; Escobar & Bermúdez-Rattoni, 2000; Yamamoto, 2007; Purón-Sierra et al., 2010; Ma et al., 2011) como con el aprendizaje de preferencias conductuales (Cubero et al., 1999; García, 2009).

De hecho, investigaciones llevadas a cabo en nuestro laboratorio han demostrado que la activación de la Corteza Insular, mediante estimulación eléctrica intracerebral, es un procedimiento adecuado para inducir preferencias comportamentales, tanto con procedimientos gustativos como espaciales (Cubero & Puerto, 2000; Simón, 2003; Simón et al., 2007; 2008; 2009; García, 2009).

En este contexto, los experimentos de esta Tesis Doctoral pretenden analizar inicialmente las características farmacológicas y fisiológicas de los efectos recompensante y aversivo de la estimulación eléctrica del subnúcleo parabraquial lateral externo. Para ello, el procedimiento experimental que se utilizará será el Condicionamiento de Preferencias por un Lugar inducido mediante estimulación eléctrica intracerebral.

En los primeros cinco primeros experimentos se llevará a cabo un análisis farmacológico de los efectos recompensante y aversivo de la estimulación eléctrica del NPBL. Dadas las altas concentraciones de receptores opiáceos mu y kappa existentes en el Complejo parabraquial (Quirion et al., 1983; Lynch et al., 1985; Mansour et al., 1994; 1995; Wolinsky et al., 1994; 1996) así como la implicación de estos sistemas neurotransmisores en el procesamiento de información de carácter reforzante (Bozarth y Wise, 1981; 1983; Crowder & Hutto, 1992a; 1992b; Le Magnen, 1992; Bechara et al., 1993; Carr & Papadouka, 1994; Papadouka & Carr, 1994; Nader et al., 1996b; Hoebel, 1997) y aversiva - en este último caso, sobre todo el sistema opiáceo kappa - (Shippenberg & Herz, 1987; Shippenberg et al., 1988c; Mansour et al., 1995;

McLaughlin et al., 2003; Beardsley et al., 2005; Valdez et al., 2007; Koob, 2008), se administrarán antagonistas opiáceos considerando que estos fármacos podrían bloquear los efectos reforzante y aversivo de la estimulación eléctrica.

Por otra parte, es un hecho bien establecido que el sistema opiáceo ejerce sus efectos en interacción con mecanismos dopaminérgicos (Hernández & Appel, 1980; Bozarth & Wise, 1983; Ettenberg & Duvauchelle, 1988; Cunningham & Kelley, 1992; Balcells-Olivero & Vecina, 1997; Duvauchelle et al., 1997; Manzanedo, 2001; Santi & Parker, 2001), los cuales a su vez han sido repetidamente asociados al procesamiento apetitivo (Wise, 1982; Garris et al., 1999; Fernández-Espejo, 2002; Phillips, 2003; Ungless, 2004) y aversivo (Cooper et al., 1974; Neill et al., 1974; Lorden et al., 1980; Sanger, 1987; Wadenberg et al., 1990; White et al., 1992; Castellano et al., 1992; McCullough et al., 1993; Salamone, 1994; Reilly & Trifunovic, 2000b; Fenu et al., 2001; 2005). Por ello, también se comprobará si los antagonistas dopaminérgicos podrían bloquear los efectos reforzante y aversivo de la estimulación eléctrica del NPBL, tal y como la mayoría (no toda) la bibliografía disponible podría anticipar.

Estudios previos en nuestro laboratorio han observado una reducción significativa en el efecto de preferencia obtenido cuando se asocian repetidamente unos estímulos gustativos con la estimulación eléctrica de la Corteza Insular Agranular Posterior (García, 2009). Este resultado contrasta, por ejemplo, con la conducta mostrada por los animales sometidos a tareas de AEIC. De hecho, desde su descubrimiento en 1954, no se ha informado sobre una disminución en la tasa de respuesta de los animales tras largos periodos de AEIC. Más bien, por el contrario, las ratas mantienen la respuesta de AEIC, una vez adquirida, y sólo disminuyen su tasa de actividad por agotamiento, cuando se encuentran exhaustas (Routtenberg & Lindy, 1965; Spies, 1965). Así, estos resultados parecen indicar inicialmente que el fenómeno de la AEIC y los efectos inducidos mediante estimulación eléctrica intracerebral del NPBL y la Corteza Insular pueden no ser semejantes (García, 2009; Simón et al., 2009). Por ello, en los experimentos séptimo y octavo, se examinará el efecto de la aplicación repetida de estimulación eléctrica en el NPBL y en la corteza insular agranular posterior sobre su potencial reforzante. En este sentido, podría esperarse que la estimulación eléctrica masiva pueda provocar una reducción en su capacidad reforzante o, lo que es lo mismo, que esta estimulación repetitiva pueda inducir un efecto de saciación o tolerancia.

Finalmente, en el noveno experimento de esta Tesis Doctoral se analizará el efecto diferencial de la administración contingente y no contingente de la estimulación eléctrica del NPBL sobre su potencial reforzante. Se ha comprobado que la estimulación eléctrica intracerebral muestra efectos neuroadaptativos diferenciales dependiendo de si es

autoadministrada por el propio animal o si es administrada por el experimentador (Garris et al., 1999; Kilpatrick et al., 2000), por ello, en este experimento se pretende analizar si estos efectos neuroadaptativos diferenciales también se extienden al ámbito conductual. Más concretamente, en este último experimento se pretende confirmar si, de acuerdo con la suposición planteada, el modo de administración no contingente de la estimulación eléctrica del NPBL podría ser el factor crucial en la reducción en su efecto reforzante.

CAPÍTULO I:

BLOQUEO FARMACOLÓGICO DE LA AVERSIÓN HACIA UN LUGAR INDUCIDA MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO.

CAPÍTULO I:

BLOQUEO FARMACOLÓGICO DE LA AVERSIÓN HACIA UN LUGAR INDUCIDA MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO

Diversos estudios han demostrado que la estimulación eléctrica de determinadas áreas cerebrales puede inducir un efecto aversivo, efecto que se ha puesto de manifiesto mediante el desarrollo de aversiones hacia un lugar y la generación de otro tipo de comportamientos – conductas de huida o conductas dirigidas a detener la estimulación eléctrica- en los animales (Kiser et al., 1978a; 1878b; Carr et al., 1982; Depoortere et al., 1990a; 1990b; Bagri et al., 1991; 2005; Duvauchelle & Ettenberg, 1991; Gomita et al., 1991; 2003; Melo & Brandao, 1995; Diotte et al., 2001).

En este sentido, se ha demostrado que el condicionamiento por un lugar es un paradigma experimental sensible y fiable para medir el valor motivacional de diferentes tratamientos cerebrales (Tzschentke, 1998). De acuerdo con este procedimiento, un estímulo incondicionado es repetidamente asociado a un conjunto de índices ambientales motivacionalmente neutros que adquieren, a lo largo del condicionamiento, propiedades de estímulo condicionado, de manera que el animal puede responder ante su presentación con un comportamiento de acercamiento, en el caso de preferencias por el lugar, o de evitación, en el caso de generar aversiones hacia un entorno.

Estudios en nuestro laboratorio han demostrado la participación del subnúcleo parabraquial lateral externo (NPBL_e) en la generación tanto de procesos de recompensa cerebral como de comportamientos de índole aversiva. Concretamente, Simón y colaboradores (2007; 2008) observaron conductas de aversión hacia un lugar tras la estimulación eléctrica del citado subnúcleo en aproximadamente un tercio de los animales intervenidos, mientras que se produjeron preferencias por un lugar en otro tercio de los animales intervenidos.

Una de las características más llamativas de la región parabraquial es la presencia de altas concentraciones de receptores opiáceos (Quirion et al., 1983; Lynch et al., 1985; Mansour et al., 1994; 1995; Wolinsky et al., 1994; 1996). Así, con el objetivo de analizar las características neuroquímicas de este comportamiento de carácter aversivo inducido mediante estimulación eléctrica del NPBL, se ha examinado la implicación del sistema opiáceo en éste, y para ello se ha utilizado naloxona, un fármaco que ha sido implicado en la interrupción o reducción del condicionamiento de preferencias por el lugar inducidas tanto por reforzadores naturales (Miller & Baum, 1989; Agmo et al., 1995) como por drogas de abuso, entre ellas, la cocaína (Kuzmin et al., 1997) o la morfina (Bilsky et al., 1990).

Por otra parte, es un hecho bien conocido que el sistema opiáceo ejerce sus efectos en interacción con mecanismos dopaminérgicos (Hernández & Appel, 1980; Bozarth & Wise, 1983; Ettenberg & Duvauchelle, 1988; Cunningham & Kelley, 1992; Balcells-Olivero & Vecina, 1997; Duvauchelle et al., 1997; Manzanedo, 2001; Santi & Parker, 2001), los cuales a su vez han sido repetidamente asociados al procesamiento aversivo (Salamone, 1994). En este sentido, diversos estudios experimentales han demostrado que la administración de 6-OHDA o de diversos neurolépticos deteriora el desarrollo tanto del condicionamiento aversivo gustativo (Lorden et al., 1980; Reilly & Trifunovic, 2000b; Fenu et al., 2001; 2005) como del aprendizaje de evitación y escape (Cooper et al., 1974; Neill et al., 1974; Sanger, 1987; Wadenberg et al., 1990; White et al., 1992; Castellano et al., 1992; McCullough et al., 1993; ver, sin embargo, Brammer et al., 1981; Ichiara et al., 1988; 1989). También se ha comprobado que una gran variedad de condiciones aversivas o estresantes incrementan la liberación y el metabolismo de la DA en diversas áreas cerebrales (Thierry et al., 1976; Deutch et al., 1985; D'Angio et al. 1987; Kalivas & Abhold, 1987; Cenci et al., 1992; Imperato et al., 1992; McCullough & Salamone, 1992; Inoue et al., 1994; Salamone, 1994; Doherty & Gratton, 1997; Wilkinson et al., 1998; Di Chiara et al., 1999; Fuchs et al., 2005; Young et al., 2005). Más aún, el sistema dopaminérgico también ha sido implicado en el procesamiento de las propiedades aversivas de la morfina (Zito et al., 1988; Pothos et al., 1991; Diana et al., 1995; 1999; Harris & Aston-Jones, 1994).

De acuerdo con todo ello, el segundo experimento realizado en esta Tesis Doctoral pretende examinar la participación del sistema dopaminérgico y, más particularmente, los efectos de uno de sus antagonistas, el tiapride, sobre la aversión hacia un lugar inducida mediante estimulación eléctrica del NPBL.

El tiapride es un derivado de benzamida, que actúa específicamente sobre los receptores dopaminérgicos D2 y D3, lo que es consistente con la ausencia de efectos secundarios motores o cognitivos y con su alta tolerabilidad (Scatton et al., 2001; Petroianu et al., 2005; 2007). Asimismo, actúa como un débil inhibidor de las colinesterasas (Petroianun et al., 2005; 2007).

Este fármaco ha sido ampliamente utilizado en el tratamiento de la agitación y la agresividad en pacientes ancianos (Scatton et al., 2001), de la disquinesia tardía (Soares & McGrath, 1999) y para aliviar el síndrome de abstinencia en pacientes en proceso de desintoxicación alcohólica (Soyka et al., 2002; Bender et al., 2007). Sin embargo, en este último caso, el tiapride sólo ha demostrado eficacia en combinación con carbamacepina (Soyka et al., 2002; Bender et al., 2007).

Por último, y dadas las frecuentes alusiones a efectos motores tras la administración de antagonistas dopaminérgicos (Zarevics & Setler, 1979; Beninger et al., 1980a; 1980b; Ettenberg et al., 1980; Fenton & Liebman, 1982; Hamilton et al., 1985; Peciña et al. 1997), se realizó un tercer experimento en el que se han examinado las manifestaciones psicomotrices de este fármaco.

EXPERIMENTO 1:
**AVERSIÓN HACIA UN LUGAR INDUCIDA MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL
SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO: EFECTO DE LA NALOXONA.**

MÉTODO

Se han utilizado 38 ratas macho Wistar suministradas por el estabulario de la Universidad de Granada, y cuyos pesos oscilaban entre 280-350 gr. al inicio del estudio. 25 de estos animales fueron implantados con un electrodo en el NPBL, 6 fueron utilizados como grupo control implantado en el Hipotálamo Lateral y los 7 restantes no fueron intervenidos quirúrgicamente.

Procedimiento quirúrgico

A su llegada al laboratorio, los animales fueron instalados en jaulas de metacrilato individuales de 30x15x30 cm. con el suelo cubierto de serrín. Las paredes laterales son negras y opacas, mientras que la anterior y la posterior son transparentes. El techo está constituido por una rejilla metálica. En uno de los frontales existen dos orificios a través de los que los animales pueden disponer de agua ad libitum. Por su parte, la comida utilizada es pienso compuesto Panlab para animales de laboratorio. En todos los experimentos de esta Tesis, los animales permanecieron, al menos, una semana en estas jaulas antes de iniciar el periodo de cirugía estereotáxica.

El procedimiento quirúrgico se inicia tras la administración intraperitoneal de una dosis de 50mg/Kg de Pentothal Sódico (Thiopental Sódico, Laboratorios Abbot S.A., Madrid). Una vez anestesiado, se le colocan unas barras accesorias en los meatos auditivos que posteriormente serán fijadas al equipo estereotáxico (Stoelting, modelo 511.600, USA).

Una vez inmovilizada la cabeza, se efectúa un corte longitudinal de unos 2 cm de largo y se insertan cuatro pequeños tornillos a los que irá fijado un electrodo de referencia de acero inoxidable de unos 5 cm. de longitud y 0,9 mm. de diámetro. A través de un nuevo orificio craneal, se introduce el electrodo intracerebral hasta alcanzar el NPBL, con las coordenadas AP: -0.16; L: \pm 2.5; V: +3 (Paxinos & Watson, 1990). En aquellos casos en los que se utilizó un

grupo control con electrodos implantados en el hipotálamo lateral, las coordenadas utilizadas fueron tomadas del atlas de De Groot (1959) AP : +5.8, V: +2.8 y L : ±1.8.

Los electrodos intracerebrales se fabrican con alfileres entomológicos de acero inoxidable (nº 00), a los que se une, formando un ángulo recto, una sección de acero inoxidable de unos 3 cm. de longitud y 0.9 mm. de diámetro, idéntica a la del electrodo de referencia. Todo este dispositivo queda aislado con INSL-X.

Todo este dispositivo queda fijado crónicamente mediante resina dental (S.R. Denture Base, Quick 3/60, Ivoclar).

Finalizado el proceso, y para prevenir posibles infecciones, se administró Povidona Yodada (Betadine, Asta Médica, Madrid) y se les inyectó intramuscularmente una dosis de 0.1 cc. de penicilina (Penilevel, Laboratorios Level, S.A., Barcelona).

Procedimiento conductual

Tras, al menos, una semana de recuperación de la cirugía, se establecieron los parámetros adecuados de estimulación para cada animal, evitando siempre que los niveles de corriente pudieran generar vocalizaciones o movimientos involuntarios (Tehovnik, 1996). Esta fase de establecimiento de la intensidad de estimulación eléctrica adecuada a cada animal se repitió en todos los experimentos que componen esta Tesis Doctoral. Los valores utilizados en este primer experimento oscilan entre 80 y 260 μ A. En todos los casos, la zona del laberinto establecida para la estimulación de cada animal se fijó aleatoriamente, de forma que, en cada caso, la mitad de los animales recibieron la estimulación en una zona y la otra mitad en la otra zona del laberinto.

Para la clasificación de los sujetos experimentales se llevaron a cabo dos ensayos de condicionamiento de preferencias por un lugar, cada uno con una duración de diez minutos. En cada ensayo se establecía el carácter positivo, negativo o neutro de cada animal, atendiendo al criterio que se expone en la tabla 1. Sin embargo, la clasificación final de cada animal se determinaba en función de su ejecución en los dos ensayos de condicionamiento, tal y como queda reflejado en la tabla 2.

CRITERIO DE CLASIFICACION DE LOS SUJETOS EXPERIMENTALES EN CADA ENSAYO DE CONDICIONAMIENTO DE PREFERENCIA POR UN LUGAR DE 10 MINUTOS DE DURACIÓN	
Se considera POSITIVO	→ Si permanece, al menos, 5 minutos en el compartimento del laberinto asociado a la estimulación.
Se considera NEGATIVO	→ Si permanece menos de 3 minutos en el compartimento asociado a la estimulación.
Se considera NEUTRO	→ Si permanece entre 3 y 5 minutos en el compartimento asociado a la estimulación.

Tabla 1. Criterio de Clasificación de los sujetos experimentales en cada ensayo de condicionamiento de preferencias por un lugar.

CRITERIO DE CLASIFICACIÓN DE LOS SUJETOS EXPERIMENTALES INTERVENIDOS SEGÚN SU EJECUCIÓN EN LOS DOS ENSAYOS DE CONDICIONAMIENTO		
CLAFISICACIÓN FINAL DEL ANIMAL	PRIMER ENSAYO DE CONDICIONAMIENTO	SEGUNDO ENSAYO DE CONDICIONAMIENTO
POSITIVO	NEUTRO	POSITIVO
	POSITIVO	POSITIVO
NEGATIVO	NEUTRO	NEGATIVO
	NEGATIVO	NEGATIVO
NEUTRO	NEUTRO	NEUTRO
	POSITIVO	NEGATIVO
	NEGATIVO	POSITIVO
	POSITIVO	NEUTRO
	NEGATIVO	NEUTRO

Tabla 2. Criterio de clasificación de los sujetos experimentales según su ejecución en los dos ensayos de condicionamiento de preferencia/aversión por un lugar.

Estos criterios comportamentales de clasificación de animales reproducen los seguidos en estudios previos para establecer los diferentes grupos en función del efecto motivacional de la estimulación eléctrica intracerebral (Simón et al., 2007; García, 2009).

De acuerdo con los criterios descritos más arriba, y en función de los datos obtenidos, se obtuvo un grupo de 12 animales negativos, que fueron divididos aleatoriamente en dos grupos de 6. Uno de estos grupos se utilizó en el presente experimento, y el otro, en el experimento 2. El resto de los animales intervenidos en el NPBL, y que no cumplían los requisitos establecidos para ser considerados como negativos, fueron excluidos de estos experimentos. Así, finalmente, los animales que participaron en este estudio quedaron divididos en tres grupos: en primer lugar, un grupo estimulado, constituido por seis animales que al recibir la estimulación eléctrica en el NPBL mostraron un comportamiento acorde con el criterio propio de los animales con un comportamiento aversivo (negativos) (ver tablas 1 y 2); un segundo grupo control implantado en el hipotálamo lateral, y constituido por seis animales que no recibieron estimulación durante las distintas fases del estudio; y un último grupo control intacto, compuesto por siete animales que no fueron sometidos a procedimiento quirúrgico alguno.

El experimento propiamente dicho ha constado de tres fases y, a su vez, cada fase está constituida por dos sesiones realizadas en días consecutivos:

FASE 1: ESTABLECIMIENTO DE LA LÍNEA BASE.

En esta primera fase, el laberinto utilizado fue construido de madera y sus dimensiones son 50x25x30cm. Consta de una zona central de 8cm. de color blanco y con el suelo de metacrilato también blanco; una zona lateral de 20 cm. de longitud, cuyas paredes estaban pintadas con líneas verticales blancas y negras, mientras que la otra zona también de 20 cm. aparece las paredes a rayas horizontales blancas y negras. El suelo de uno de los compartimentos laterales es de corcho marrón, mientras que el otro utiliza corcho blanco con líneas negras. Este test será denominado laberinto 1 (ver Figura 18).



Figura 18. Fotografía del Laberinto 1.

Durante las dos sesiones de la primera fase, los animales recibieron la estimulación eléctrica en un compartimiento del laberinto previamente fijado. Así, en todos los grupos, cada animal, al principio de cada ensayo, fue situado en el espacio central neutro y permaneció en el laberinto durante 10 minutos, pudiendo deambular libremente por él, registrándose los tiempos de permanencia en cada zona. Se consideraba que un animal se encontraba dentro de uno de los compartimentos laterales cuando su cabeza y sus patas delanteras estaban dentro de ese compartimento. Para el análisis estadístico, sólo se tuvieron en cuenta los tiempos que cada animal permaneció en la zona estimulada durante el segundo ensayo de cada fase.

FASE 2: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE NALOXONA.

En esta segunda fase y para evitar transferencias, se utilizó un nuevo laberinto en forma de T, aunque eliminando uno de sus brazos mediante una compuerta blanca. Resultaba así un laberinto en corredor, pero ahora las dimensiones eran 70x15x15 cm. En él, también se pueden distinguir tres zonas: una zona central de 10 cm. con suelo de papel blanco cubierto por una rejilla metálica y paredes blancas, y otras dos zonas de 30 cm. cada una, con paredes de metacrilato negras y suelo de corcho marrón. Estas dos zonas laterales se diferencian también entre sí en que una de ellas dispone en la pared frontal de un orificio circular, mientras que en la otra es rectangular. Además, el suelo de la primera zona mencionada presentaba incisiones horizontales de 8x1 cm. mientras que la segunda las tenía en sentido vertical. Este test ha sido denominado laberinto 2 (ver figura 19).



Figura 19. Fotografía del Laberinto 2.

Cuarenta y ocho horas después de la primera fase, comenzó la segunda fase en la que a todos los animales se les administró naloxona (Naloxone Hydrochloride, Lab. Sigma, St. Louis, USA) 20 minutos antes de situarlos en el laberinto. La dosis utilizada fue de 4 mg/ml/kg y se les administró subcutáneamente. En todo lo demás, se siguió el mismo procedimiento descrito para la primera fase.

FASE 3: ADMINISTRACIÓN DEL VEHÍCULO (AGUA DESTILADA).

Al igual que en la fase anterior, y para evitar posibles transferencias adquisitivas, ahora no sólo se utilizó un nuevo laberinto diferente de los anteriores, sino que también se modificó la orientación del mismo. En todas las fases del experimento se utilizó ruido blanco de fondo para evitar interferencias sonoras.

En esta tercera fase, dos días después de la anterior, los animales recibieron la administración subcutánea de 4 ml/kg de agua destilada (vehículo), también 20 minutos antes de situarlos en el laberinto, siguiendo a continuación el mismo procedimiento que en las fases anteriores. Ahora, el nuevo laberinto empleado tenía las siguientes dimensiones: 50x25x30cm. Como en los casos anteriores hay que distinguir dos compartimentos laterales y un espacio

central. El espacio central mide 8cm. y tanto el suelo como las paredes estaban construidas de metacrilato blanco; por su parte, los compartimentos laterales medían 20 cm., uno de ellos presentaba las paredes con líneas verticales blancas y negras, mientras que el otro lo hacía con rayas horizontales blancas y negras, si bien en este caso eran ligeramente más gruesas que las del laberinto utilizado en la primera fase. Este test ha sido denominado laberinto 3 (ver figura 20).



Figura 20. Fotografía del Laberinto 3.

Histología

Al finalizar cada uno de los experimentos que componen esta Tesis Doctoral, todos los animales implantados recibieron una dosis letal de anestésico, más concretamente 0.25 mg. de pentotal sódico (Thiopental Sódico, Laboratorios Abbot S.A., Madrid). Tras marcar la zona de la estimulación mediante una pequeña lesión electrolítica (0.3 mA de corriente catódica continua durante 5 segundos), se llevó a cabo una perfusión transcardíaca inyectando varias soluciones de suero fisiológico y formaldehído al 10%. Los cerebros fueron extraídos del cráneo cuidadosamente y conservados en una solución de formaldehído al 10% durante varios días. Posteriormente, se laminaron secciones de aproximadamente 80 micras de grosor, con la ayuda de un vibrotomo, y fueron montadas en portaobjetos para ser teñidas con Violeta de Cresilo y fotografiadas.

RESULTADOS

Todos los análisis estadísticos se realizaron teniendo en cuenta el tiempo de permanencia del animal en el compartimiento asociado a la estimulación eléctrica o equivalente durante la segunda sesión de cada fase. Para todos los análisis incluidos en esta Tesis Doctoral se ha utilizado el programa estadístico STATISTICA 6.0 para Windows (StatSoft, 2001; Tulsa, EE.UU). Para el análisis de los datos de este experimento se utilizó un ANOVA unifactorial intrasujeto.

	Línea Base	Fase con naloxona	Fase con vehículo
Grupo estimulado	29,5	347,83	24
Grupo control implantado	330	280,83	217,33
Grupo control intacto	222	219,86	264,71

Tabla 3. Resultados del experimento 1. Los datos de ésta y las siguientes tablas de resultados indican el tiempo medio, en segundos, de permanencia de cada grupo experimental en el compartimiento asociado a estimulación, durante la segunda sesión de las distintas fases del estudio.

Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas en la ejecución del grupo estimulado en las distintas fases experimentales ($F_{(2,10)} = 6.461$, $p < 0.0158$).

Este no es el caso en el grupo control implantado, en el que no se observaron diferencias significativas ($F_{(2,10)} = 0.408$, $p < 0.676$), ni tampoco en el grupo control intacto ($F_{(2,12)} = 0.446$, $p < 0.650$).

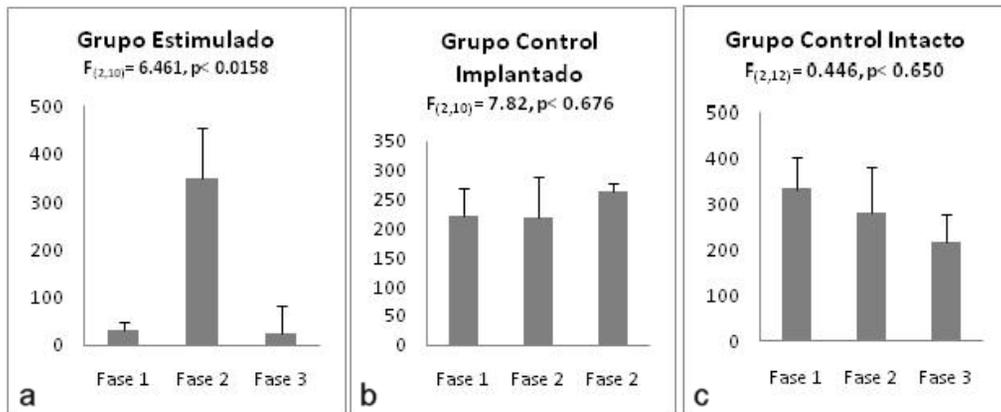


Figura 21. a: Representación gráfica de los resultados obtenidos en el experimento 1 por el grupo estimulado, b: por el grupo control implantado, y c: por el grupo control intacto. La ordenada representa el tiempo medio, en segundos, de permanencia de cada grupo en el compartimento asociado a estimulación en cada fase del estudio.

Asimismo, la siguiente microfotografía muestra la localización del electrodo en un animal representativo del grupo estimulado de este primer experimento:



Microfotografía 1. Localización del electrodo en un sujeto perteneciente al Grupo Experimental del Experimento 1.

EXPERIMENTO 2:
EL TIAPRIDE, UN ANTAGONISTA D2/D3, BLOQUEA LA AVERSIÓN HACIA UN LUGAR
INDUCIDA MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL
SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO.

METODOLOGÍA

En el Experimento 2 de esta Tesis Doctoral se utilizaron 18 ratas macho Wistar suministradas por el animalario de la Universidad de Granada, cuyo peso oscilaba entre 280 y 350 gr. al inicio del estudio. Seis procedían del grupo negativo obtenido en la fase previa descrita en el experimento anterior. A estos animales se añadió un grupo control implantado en el Hipotálamo Lateral de 5 animales y otro grupo con 7 animales, sin intervención quirúrgica.

Procedimiento quirúrgico

Similar al descrito en el Experimento 1.

Procedimiento conductual

En este segundo experimento, se utilizó un procedimiento similar al descrito en el experimento anterior, e incluyendo tres fases, separadas por al menos 48 horas, con dos sesiones en días consecutivos constituyendo cada fase. En este caso, la intensidad de estimulación eléctrica utilizada resultó entre 80 y 200 μ A.

Las tres fases fueron similares a las del experimento anterior, utilizando los mismos laberintos en cada fase, aunque ahora en la segunda fase los animales recibieron una inyección de tiapride (Tiaprizal, tiapride inyectable, SANOFI-SYNTHELABO S.A., Barcelona, España), un antagonista dopaminérgico selectivo de los receptores D2 y D3, administrado 30 minutos antes de las pruebas (Cohen et al., 1997b). La dosis utilizada fue de 30mg./kg, y se administró mediante inyección intraperitoneal.

Al igual que en el experimento anterior y de acuerdo con los resultados y el criterio establecido, los animales quedaron divididos en tres grupos: un primer grupo estimulado, constituido por seis animales estimulados eléctricamente en el NPBL, y cuyo comportamiento los incluía dentro de los sujetos considerados como negativos (tablas 1 y 2); un segundo grupo control implantado en el hipotálamo lateral y constituido por cinco animales que no recibían estimulación durante las distintas fases del estudio; y, por último, un grupo control intacto, que incluía siete animales que no fueron sometidos a procedimiento quirúrgico alguno.

RESULTADOS

Como en el experimento anterior, se llevó a cabo un ANOVA unifactorial intrasujeto para el análisis estadístico de los datos. Para ello se utilizaron los datos procedentes del segundo ensayo de cada fase.

	Línea Base	Fase con tiapride	Fase con vehículo
Grupo estimulado	18,5	389,83	98,17
Grupo control implantado	316,2	339,8	227,25
Grupo control intacto	266,14	254,57	221,29

Tabla 4. Resultados del experimento 2. Los datos de esta tabla de resultados indican el tiempo medio, en segundos, de permanencia de cada grupo experimental en el compartimento asociado a estimulación, durante la segunda sesión de las distintas fases del estudio.

En este estudio, se observan diferencias significativas en el grupo estimulado ($F_{(2,10)} = 5.399$, $p < 0.0257$). Por su parte, en el grupo control implantado no se observan diferencias significativas ($F_{(2,6)} = 0.06$, $p < 0.939$), ni tampoco en el grupo control intacto ($F_{(2,10)} = 0.2603$, $p < 0.7759$).

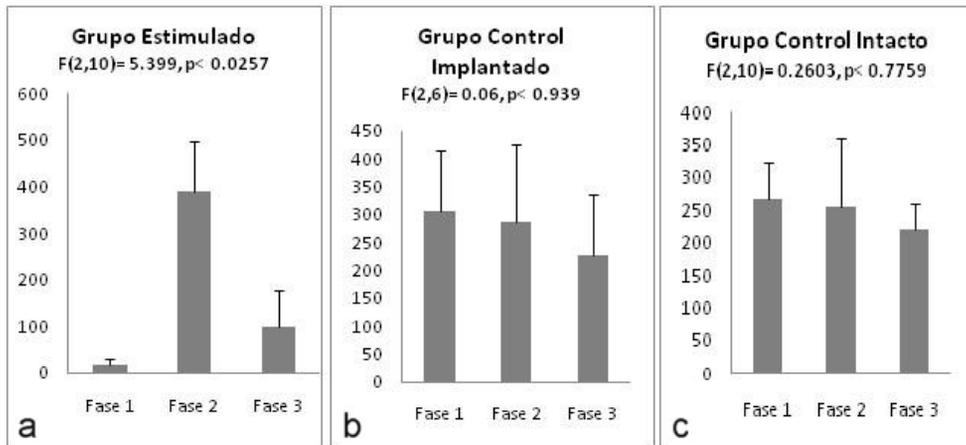
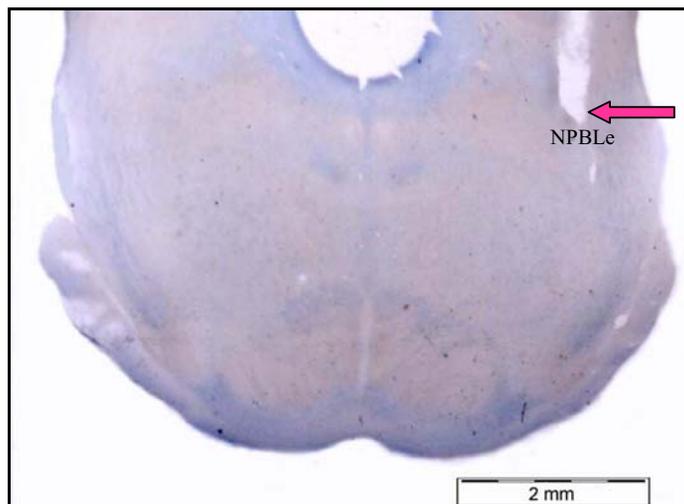


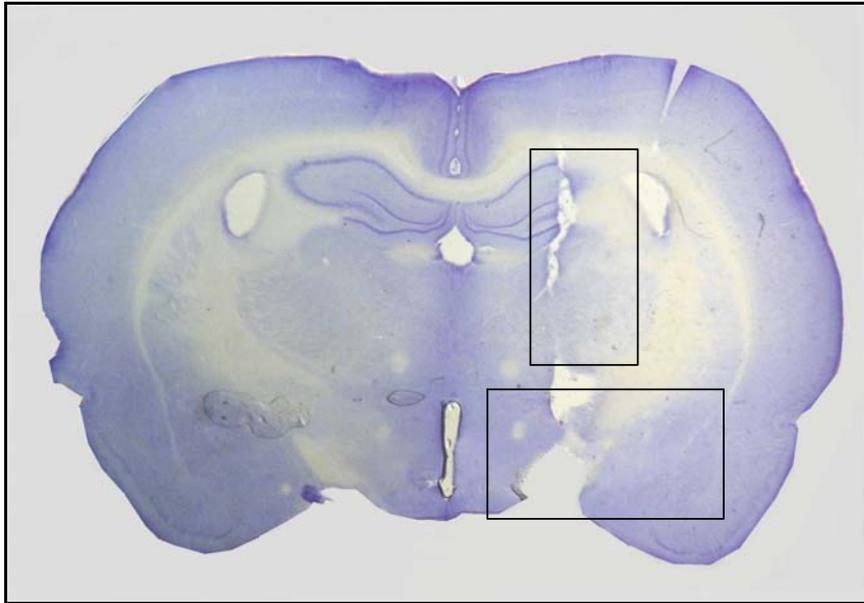
Figura 22. a: Representación gráfica de los resultados obtenidos en el experimento 2 por el grupo estimulado, b: por el grupo control implantado, y c: por el grupo control intacto. La ordenada representa el tiempo medio, en segundos, de permanencia de cada grupo en el compartimento asociado a estimulación en cada fase del estudio.

En esta microfotografía se muestra la localización histológica del microelectrodo implantado en uno de los sujetos pertenecientes al grupo estimulado (Microfotografía 2).

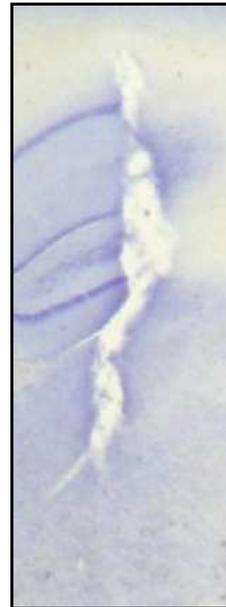


Microfotografía 2. Localización del electrodo en un sujeto perteneciente al grupo estimulado en el NPBLe del Experimento 2.

Asimismo, en esta microfotografía se muestra la localización histológica tanto del tracto como de la lesión electrolítica realizada a uno de los sujetos pertenecientes al grupo control implantado (Microfotografía 3).



Microfotografía 3a. Localización del electrodo en un sujeto perteneciente al grupo control implantado (experimento 2).



Microfotografía 3b. Detalle de la lesión mostrada en la microfotografía anterior. **Microfotografía 3c.** Detalle del tracto del electrodo.

EXPERIMENTO 3:
ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO MOTOR INDUCIDO POR EL TIAPRIDE DURANTE EL BLOQUEO DE LA AVERSIÓN HACIA UN LUGAR INDUCIDA MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO.

METODOLOGÍA

En este estudio se utilizaron 30 ratas macho Wistar suministradas por el animalario de la Universidad de Granada, cuyo peso oscilaba entre 280-350 gr. al inicio del estudio.

Procedimiento quirúrgico

En este experimento, los 30 animales utilizados se dividieron en dos grupos inicialmente:

- *Grupo control intacto*: constituido por diez animales y no fue sometido a procedimiento quirúrgico alguno.

- *Grupo implantado*: veinte animales fueron implantados crónicamente con un electrodo de estimulación eléctrica intracerebral en el NPBL_e, de manera idéntica a lo descrito en experimentos previos.

Procedimiento conductual

Al menos con una semana de recuperación desde el proceso quirúrgico, se establecieron los parámetros adecuados de estimulación eléctrica para cada animal, evitando siempre que los niveles de corriente pudieran generar vocalizaciones o movimientos involuntarios (Tehovnik, 1996). Ahora, las intensidades de corriente utilizadas oscilaron entre 95 y 200 μ A. Como en los casos anteriores, la zona de estimulación se estableció aleatoriamente para cada animal, de forma que, en cada laberinto, la mitad de los animales recibieron la estimulación en una zona y la otra mitad en la otra.

En este caso, el experimento constó de dos fases, quedando constituida la primera fase por dos sesiones realizadas en días consecutivos y la segunda fase por una sesión única:

FASE 1: ESTABLECIMIENTO DE LA LÍNEA BASE Y CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES EN DISTINTOS GRUPOS.

Durante las dos sesiones de la primera fase, los animales implantados recibieron la estimulación eléctrica del NPBL en el compartimiento del laberinto previamente fijado. En todos los grupos, cada animal, y 30 minutos antes del inicio de cada ensayo, recibió una inyección de agua destilada equivalente en cantidad a la dosis que posteriormente se administraría de tiapride. A continuación cada animal fue situado en el espacio central neutro y permaneció en el laberinto durante 10 minutos, pudiendo deambular libremente por él, registrándose los tiempos de permanencia en cada zona. Al igual que en los experimentos anteriores, se consideraba que un animal estaba situado en uno de los compartimentos laterales cuando su cabeza y sus patas delanteras estuvieran dentro de ese compartimiento. Para el análisis estadístico, sólo se tuvieron en cuenta los tiempos que cada animal permaneció en la zona estimulada durante el segundo ensayo.

En esta fase, se utilizó el laberinto 2. Según los criterios establecidos y los resultados obtenidos en esta fase, seis de los animales implantados quedaron excluidos del estudio, al no cumplir los criterios establecidos para formar parte de los siguientes grupos, y con los restantes quedaron establecidos dos grupos, además del grupo control intacto, a saber:

- *Grupo control implantado en el NPBL*: constituido por los animales que permanecieron en el compartimiento asociado a la estimulación entre 3 y 5 minutos durante el segundo ensayo de la primera fase (animales neutros). También se incluyeron en este grupo a los animales que no muestran comportamientos consistentes de evitación o preferencia y que si bien el primer día permanecen más de 5 minutos en el compartimiento asociado a estimulación, en el segundo se mantienen menos de 3 minutos, o viceversa (Tablas 1 y 2). Finalmente, este grupo quedó constituido por ocho animales. En cualquier caso, este grupo recibió estimulación solamente durante la primera fase del estudio.

- *Grupo estimulado*: integrado por los sujetos que se ajustan a los criterios establecidos y descritos en el experimento 1 (Tablas 1 y 2) para los animales negativos. Quedó formado finalmente por 6 sujetos.
- *Grupo control intacto*: constituido por los 10 animales que no fueron intervenidos quirúrgicamente.

FASE 2: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE TIAPRIDE.

Cuarenta y ocho horas después, se dio comienzo a la segunda fase en la que a todos los animales se les administró intraperitonealmente una dosis de 30 mg/kg de tiapride (Tiaprizal, tiapride inyectable, SANOFI-SYNTHELABO S.A., Barcelona, España), 30 minutos antes de situarlos en el laberinto. A continuación, se siguió el mismo procedimiento descrito en la primera fase durante un ensayo. Ahora, se utilizó un nuevo laberinto (laberinto 1) y se modificó su orientación con respecto al anterior. En todas las fases del experimento se utilizó ruido blanco de fondo para evitar interferencias sonoras.

Además de registrarse los tiempos de estancia del animal en cada compartimento del laberinto, también se registraron dos índices de actividad motora durante ambas fases. Por una parte, se registra la actividad horizontal, esencial para poder realizar adecuadamente la tarea, y que queda operativizada como el número de cruces que realiza el animal de un compartimento a otro del laberinto. Asimismo, se registra la actividad vertical y, más concretamente, el número de movimientos de alzada (*rearings*) que realiza el animal durante la tarea.

RESULTADOS

Al igual que en los experimentos anteriores, para el análisis de datos se ha utilizado el programa estadístico STATISTICA 6.0 para Windows (StatSoft, 2001; Tusla, EE.UU). Asimismo, los datos de este experimento se analizaron con un ANOVA unifactorial intrasujeto.

	Fase con vehículo	Fase con tiapride
Grupo estimulado	102,7	335
Grupo control implantado	226,8	221,5
Grupo control intacto	245	256,8

Tabla 5. Resultados del experimento 3. Los datos de esta tabla de resultados indican el tiempo medio, en segundos, de permanencia de cada grupo experimental en el compartimento asociado a estimulación, durante la segunda sesión de la primera fase y en la segunda fase.

Los resultados del proceso de aprendizaje aversivo obtenidos en el tercer experimento reproducen los resultados del segundo, encontrándose un efecto significativo del tiapride en el grupo estimulado ($F_{(1,5)} = 8.0028$; $p < 0.0367$), y la ausencia de efecto en los grupos control implantado ($F_{(1,7)} = 0.0024$; $p < 0.9627$) y control intacto ($F_{(1,9)} = 0.0278$; $p < 0.8713$).

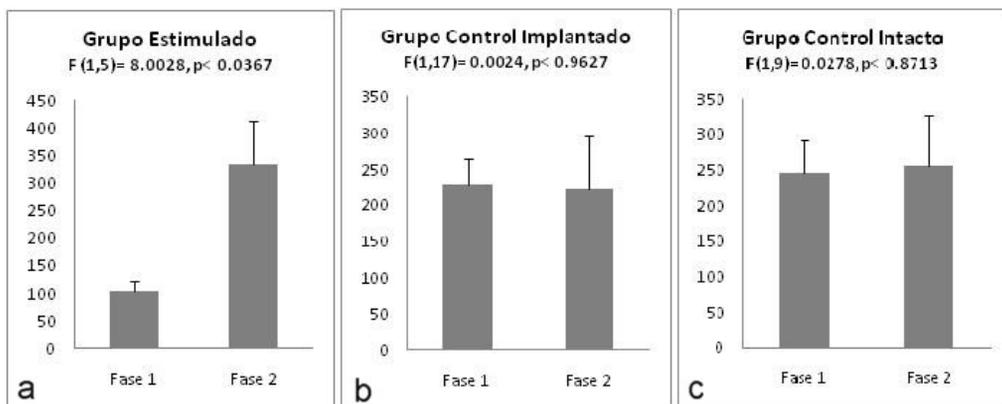


Figura 23. a: Representación gráfica de los resultados obtenidos en el experimento 3 por el grupo estimulado, b: por el grupo control implantado, y c: por el grupo control intacto. La ordenada representa el tiempo medio, en segundos, de permanencia de cada grupo en el compartimento asociado a estimulación en cada fase del estudio.

El análisis de los datos obtenidos sugiere que estos resultados parecen descartar cualquier efecto colateral de carácter motor relacionado con la administración del tiapride. La administración de este fármaco no altera el número de cruces efectuados por los animales en las distintas fases experimentales (Grupo estimulado: $F_{(1,5)} = 0.0028$, $p < 0.9599$; Grupo control implantado: $F_{(1,7)} = 0.0460$, $p < 0.8364$; Grupo control intacto: $F_{(1,9)} = 3.0428$, $p < 0.1151$; Figura 24). Por otra parte, se observa una disminución en el número de respuestas de alzada (*rearings*) en todos los grupos, pero este descenso sólo resulta significativo en el grupo control intacto ($F_{(1,9)} = 5.2878$, $p < 0.0470$), y no en el caso del grupo control implantado ($F_{(1,7)} = 2.9823$, $p = 0.1278$) ni tampoco en el grupo estimulado ($F_{(1,5)} = 2.0279$, $p < 0.2137$), que parecen no haber sufrido cambios significativos en la actividad motora vertical (ver figura 25).

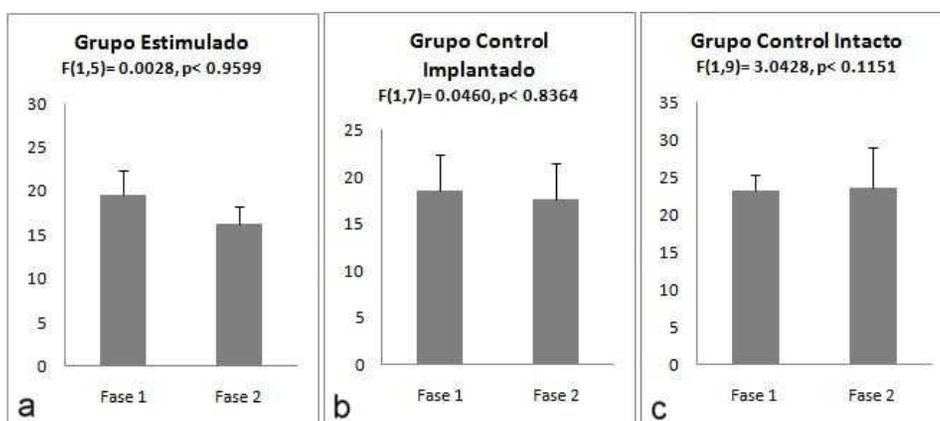


Figura 24. a: Representación gráfica de los resultados de la **actividad horizontal** en el experimento 3 por el grupo estimulado, **b**: por el grupo control implantado, y **c**: por el grupo control intacto. La ordenada representa el número medio de cruces que realizan los animales en cada fase del estudio.

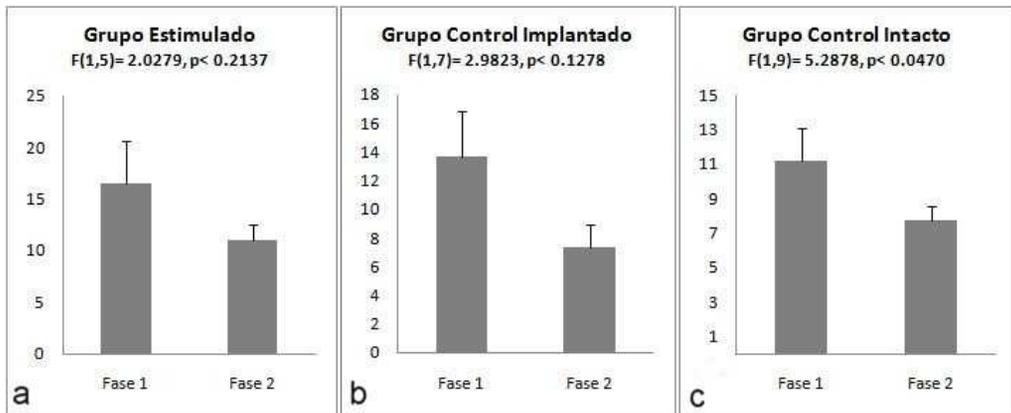
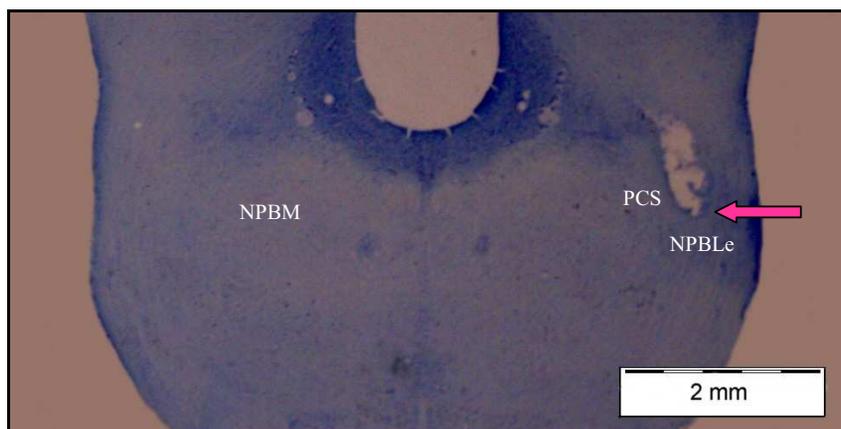


Figura 25. a: Representación gráfica de los resultados de la **actividad vertical** obtenidos en el experimento 3 por el grupo estimulado, **b:** por el grupo control implantado, y **c:** por el grupo control intacto. La ordenada representa el número de movimientos de alzada que realizan los animales en las distintas fases del estudio.

Los resultados del análisis histológico muestran la localización del microelectrodo en la siguiente microfotografía, correspondiente a un animal perteneciente al grupo estimulado (Microfotografía 4).



Microfotografía 4. Localización del electrodo en un sujeto perteneciente al Grupo Estimulado del Experimento 3. Abreviaturas: NPBM: Núcleo parabraquial medial; NPBL: Núcleo parabraquial lateral externo; PCS: Pedúnculo Cerebeloso Superior.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este primer capítulo demuestran que la estimulación eléctrica del NPBL puede inducir conductas de aversión hacia uno de los dos lugares de un laberinto en corredor. Este efecto aversivo, mostrado a través de un procedimiento de aprendizaje concurrente, puede ser bloqueado mediante la administración de naloxona, un antagonista opiáceo (Experimento 1). También puede ser inhibido mediante la administración de tiapride, un antagonista dopaminérgico selectivo de los receptores D2 y D3 (Experimentos 2 y 3), sin que se constaten efectos motores colaterales relevantes, particularmente en la actividad horizontal (Experimento 3).

Los resultados aversivos de la estimulación eléctrica del NPBL son comparables con otros datos previos obtenidos en este laboratorio, en los que se demostraba que el componente aversivo del aprendizaje puede ser provocado por estimulación eléctrica de otras regiones cerebrales (Gallo et al., 1988; Agüero et al., 1993a). Concretamente, Gallo y colaboradores (1988) descubrieron que la estimulación eléctrica del área postrema puede utilizarse como estímulo aversivo en el aprendizaje aversivo gustativo. Asimismo, otras investigaciones han implicado también al complejo parabraquial lateral en el aprendizaje aversivo gustativo (Agüero et al., 1993b).

Dentro de este planteamiento, los estudios más recientes de M.J. Simón (2003) han demostrado, por otra parte, que, de hecho, la estimulación eléctrica del NPBL puede generar comportamientos de recompensa en aproximadamente un tercio de los animales, de aversión en otro tercio, mientras que los restantes animales mostraban comportamientos indefinidos en respuesta a la estimulación. Estos comportamientos de índole motivacional en respuesta a la estimulación son consistentes en cada animal e independientemente de las tareas experimentales empleadas (Simón et al., 2008). En resumen, todos estos resultados coinciden en la posibilidad de inducir respuestas motivacionales aversivas a través de la estimulación eléctrica del NPBL.

El componente aversivo generado a través de la estimulación eléctrica del complejo parabraquial podría estar relacionado con importantes procesos motivacionales y, así, Bechara y sus colaboradores (1993) demostraron que las lesiones bilaterales de la división parabraquial lateral pero no las lesiones de su división medial, bloqueaban la aversión gustativa inducida por la morfina, sin afectar a sus efectos recompensantes. Estos resultados sugieren, por lo tanto,

que algunas regiones de la división lateral del complejo parabraquial podrían estar implicadas en el procesamiento de los aspectos motivacionales aversivos de la morfina. En otros experimentos, este mismo grupo de investigación demostraba también que los animales con lesiones en la región parabraquial lateral eran incapaces de desarrollar aversión hacia el sabor asociado con la administración de morfina, ni tampoco al compartimento del laberinto asociado con la inducción de abstinencia opiácea (Nader, Bechara & Van der Kooy, 1996a).

Las pruebas de aversión condicionada hacia un lugar han sido utilizadas frecuentemente como medida de los efectos aversivos de la abstinencia (Hand et al., 1988; Stinus et al., 1990; Gracy, Dankewick & Koob, 2001; Azar, Jones & Schulteis, 2003). En contraposición con las preferencias por un lugar, las ratas que son expuestas a un entorno particular mientras se manifiesta el síndrome de abstinencia, habitualmente precipitado mediante la administración de naloxona, pasan menos tiempo en ese entorno asociado a la abstinencia cuando se dispone de una alternativa de elección constituida por un ambiente no condicionado (Koob & LeMoal, 2006).

En el primer experimento de este capítulo, la administración de un antagonista opiáceo, la naloxona, consigue bloquear la aversión hacia un lugar inducida por estimulación eléctrica del NPBL. Estos datos podrían implicar, al menos parcialmente, a receptores μ y κ presentes en el complejo parabraquial (Quirion et al., 1983; Lynch et al., 1985; Mansour et al., 1994; 1995; Wolinsky et al., 1994; 1996). Así, es bien conocido que la activación de los receptores opiáceos κ provoca un descenso en la liberación de dopamina en la vía mesocorticolímbica además de resultar aversiva en los paradigmas de condicionamiento por un lugar (Shippenberg & Herz, 1987). Más aún, sus agonistas no generan conductas de autoadministración (Mansour et al., 1995) y dejan de activarse en situaciones de estimulación nociva prolongada (Shippenberg et al., 1988c). Estos resultados sugieren que los receptores opiáceos kappa podrían ser candidatos apropiados para explicar el efecto obtenido en este experimento.

Estudios recientes han relacionado a este receptor kappa con la reinstauración de búsqueda de drogas de abuso en animales adictos inducida mediante estrés (McLaughlin et al., 2003; Beardsley et al., 2005; Valdez et al., 2007), mientras que los agonistas del receptor kappa-2 pueden inhibir la respuesta hiperalgésica generada por inflamación muscular y dolor neuropático (Ho et al., 1997; Eliav et al., 1999), aunque su efectividad para tratar el dolor visceral es sólo parcial (Neubert, Rossi, Pogar, Jenkins & Caudle, 2007).

La relación de los procesos de aprendizaje motivacional con los sistemas opiáceos en general y con la utilización de sus antagonistas, en particular, se han llevado a cabo principalmente a través de procedimientos de condicionamiento de preferencias (por ejemplo, Shide & Blass, 1991; Mehiel, 1996; Azzara et al., 2000; Baker et al., 2004). Resultan, sin embargo, contraintuitivos los intentos de bloquear un condicionamiento aversivo mediante antagonistas opiáceos, que, por sí mismos, pueden ser aversivos (Ramabadran, 1983; Shippenberg & Herz, 1987; Hand et al., 1988; Blokhina, Sukhotina & Beshpalov, 2000; Stinus et al., 2000; Schulteis et al., 2005; Amitai, Liu & Schulteis, 2006). Sin embargo, la relación de las células aversivas parabraquiales y el sistema opiáceo ha sido puesta de manifiesto en estudios como el realizado por Huang y colaboradores (1993), en el que se registraron 20 neuronas parabraquiales que respondían a estímulos nocivos, la mayoría de ellas localizadas en el NPBL, 7 de ellas fueron completamente suprimidas tras la administración de morfina, mientras que 4 neuronas (que suponen un 20% del total registradas) mostraron un incremento moderado en su respuesta después de la administración de 1 o 3 mg/Kg de morfina. Estos datos sugieren la posible existencia de neuronas parabraquiales implicadas en el procesamiento del dolor (quizá en su componente aversivo) que, a su vez, pueden activarse mediante la administración de morfina.

En los experimentos segundo y tercero se observa que la administración de tiapride, un antagonista dopaminérgico selectivo de los receptores D2 y D3, bloquea la aversión hacia un lugar inducida por la estimulación eléctrica del NPBL.

Numerosos resultados experimentales atribuyen al sistema dopaminérgico un importante papel como sistema de mediación de los efectos de los opiáceos, al menos con respecto a las conductas de refuerzo (Hernández & Appel, 1980; Bozarth & Wise, 1981; Shippenberg & Herz, 1987; Balcells-Olivero & Vecina, 1997; Manzanedo, 2001; Santi & Parker, 2001).

Así, Santi y Parker (2001) lograron bloquear el efecto aversivo inducido por la naloxona mediante la administración de flupentixol (antagonista dopaminérgico), implicando de este modo a la dopamina en los efectos aversivos del sistema opiáceo. Lo mismo se ha observado en tareas de aprendizaje espacial aversivo, en las que la administración de haloperidol reduce significativamente la aversión hacia un lugar inducida farmacológicamente (Di Scala & Sandner, 1989).

Por otra parte, los resultados de los experimentos 2 y 3 son compatibles con numerosos datos experimentales que consideran al sistema dopaminérgico como esencial en la motivación de índole aversiva (Sanger, 1987; Shippenberg & Herz, 1987; White et al., 1992; Cenci et al., 1992; Imperato et al., 1992; McCullough & Salamone, 1992; Salamone, 1994; Doherty & Gratton, 1997; Wilkinson et al., 1998; Di Chiara et al., 1999; Fenu et al., 2001; 2005; Jensen et al., 2003; Fuchs et al., 2005; Young et al., 2005), y así, con las nuevas propuestas sobre el papel de la dopamina en el desarrollo de conductas motivadas, que señalan un papel de este sistema en el arousal conductual que aparece típicamente en los animales cuando son expuestos a estímulos motivacionales y que facilita la capacidad de reacción para aproximarse o evitar dichos estímulos (Chiodo et al., 1980; Salamone, 1992; 1994; 2009; Salamone et al., 1997; Roitman et al., 2004a; Barbano & Cador, 2007; Bardgett et al., 2009).

En el tercer experimento se ha examinado el comportamiento motor horizontal (cruces) y vertical (movimientos de alzada) de los distintos grupos experimentales. En el grupo estimulado intracerebralmente no se produce un descenso significativo de la actividad horizontal ni vertical, lo cual parece excluir la existencia de potenciales efectos motores secundarios resultado de la administración de tiapride. Sin embargo, sí puede apreciarse una cierta reducción de la actividad vertical en todos los grupos experimentales. En cualquier caso, es bien sabido que la correcta realización de las tareas de condicionamiento de preferencias/aversiones por un lugar es específicamente dependiente de la capacidad de los animales para desplazarse entre los compartimentos (actividad horizontal) y, al parecer, está menos relacionada con la actividad vertical. Esta actividad vertical ha sido considerada como una manifestación de sensibilización conductual (que, de hecho, ha sido operativizada a través del número de conductas de alzada) y que, por ejemplo, manifiestan los animales tras el consumo de drogas de abuso, tales como morfina, Anfetamina, cocaína y nicotina (Joyce & Iversen, 1979; Bechara & Van der Kooy, 1992a; 1992b; Brown & Fibiger, 1992; Deminière et al., 1992; Balcells-Olivero & Vezina, 1997; Schilstein et al., 1998). En otras palabras, las respuestas de alzada han sido conceptualizadas como conductas de tipo exploratorio, relacionadas frecuentemente con las situaciones de novedad a las que se han visto expuestos los animales o incluso como índices de ansiedad (Emmanouil & Quock, 1990; Milman et al., 2006).

Se ha comprobado que este incremento de las conductas de alzada inducido por drogas de abuso se puede reducir mediante la administración de antagonistas dopaminérgicos D3 (Chiang et al., 2003) y, de hecho, Cohen y colaboradores (1997a) consiguieron bloquear el

efecto de sensibilización conductual inducido por alcohol mediante la administración de dosis de 30 a 60 mg./kg. de tiapride.

El tiapride es una sustancia que en el ámbito clínico se puede utilizar como tratamiento del síndrome de abstinencia y el deseo intenso por consumir (*craving*) alcohol en pacientes en proceso de desintoxicación (Soyka et al., 2002; Bender et al., 2007).

Por otra parte, diversos estudios de laboratorio han relacionado repetidamente los receptores dopaminérgicos D2 y D3 con los procesos adictivos (Volkow et al., 1999a; 1999b; Campiani et al., 2003; Cervo et al., 2003; Dalley et al., 2007; Gyertyán et al., 2007; Sorensen et al., 2008; Perkins et al., 2008; Li et al., 2009...) y, de hecho, los receptores dopaminérgicos D3 han sido asociados con los estados motivacionales aversivos relacionados con la drogadicción – abstinencia, *craving*...-. En este sentido, la administración de agonistas parciales D3 reduce el restablecimiento de conductas de búsqueda de cocaína, nicotina y alcohol inducidas por claves asociadas (Pilla et al., 1999; Le Foll et al., 2002; 2005; Vorel et al., 2002; Campiani et al., 2003; Cervo et al., 2003; Vengeliene et al., 2006; Gyertyán et al., 2007), si bien existe la posibilidad de que los agonistas parciales D3 puedan estar actuando como antagonistas D3 en este tipo de estudios (Wood et al., 2000; Wicke & García-Ladona, 2001), lo cual sería compatible con el hecho de que se obtengan resultados similares tras administrar agonistas parciales o antagonistas D3 (Le Foll et al., 2002; 2005; Duarte et al., 2003).

En cualquier caso, la acción de los receptores dopaminérgicos no sólo ha sido relacionada con los estados motivacionales aversivos, sino también con los procesos de recompensa y refuerzo implicados en la drogadicción (Sinnott et al., 1999; Vorel et al., 2002; Cervo et al., 2003; Le Foll et al., 2005; Thanos et al., 2005; Ross et al., 2007; Wee et al., 2007; Sorensen et al., 2008; Li et al., 2009), como se expondrá en el próximo capítulo.

CAPÍTULO II:

EFECTOS DIFERENCIALES DE LOS ANTAGONISTAS
DOPAMINÉRGICOS Y OPIÁCEOS SOBRE LAS
PREFERENCIAS POR UN LUGAR INDUCIDAS MEDIANTE
ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL SUBNÚCELO
PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO.

CAPÍTULO II:

EFFECTOS DIFERENCIALES DE LOS ANTAGONISTAS DOPAMINÉRGICOS Y OPIÁCEOS SOBRE LAS PREFERENCIAS POR UN LUGAR INDUCIDAS MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO

Los resultados del capítulo anterior, así como otros estudios que relacionan al NPBL con el aprendizaje aversivo gustativo, han puesto de manifiesto la relevancia de este subnúcleo parabraquial en la motivación aversiva (Sakai & Yamamoto, 1997; Mediavilla et al., 2000, 2005).

Sin embargo, también existen diversos datos que sugieren la participación de esta región pontina en la motivación de índole apetitiva o recompensante. Concretamente, se ha observado una activación de este subnúcleo tras la administración intraduodenal de glucosa (Wang et al., 1999b) así como tras la administración intragástrica de etanol, lactosa y sacarosa (Yamamoto & Sawa, 2000a, 2000b). En este sentido, lesiones efectuadas en la región parabraquial lateral atenúan la sobreingesta de alimento producida tras lesiones del área postrema (Edwards & Ritter, 1989) al tiempo que bloquea las preferencias gustativas inducidas mediante la administración de alimentos recompensantes (Zafra et al., 2002).

Más recientemente, Simón y colaboradores (2007) han demostrado que la estimulación eléctrica del NPBL puede actuar como estímulo recompensante en distintos tipos de aprendizaje, a saber, en aprendizaje gustativo apetitivo y condicionamiento de preferencias por un lugar, descartando de este modo que el efecto esté relacionado exclusivamente con la

utilización de un procedimiento experimental en particular. De modo relevante, Simón y asociados (2007) pudieron demostrar que las preferencias por un lugar inducidas mediante la estimulación eléctrica del NPBLe eran dependientes de los sistemas opiáceos, ya que la administración de naloxona bloqueaba este efecto. De hecho, existe evidencia experimental que implica a este subnúcleo parabraquial con el procesamiento cerebral de ciertas sustancias con propiedades recompensantes tales como las anfetaminas (Sakai & Yamamoto, 1997) y los opiáceos (Ding et al., 1996; Gutstein et al., 1998; Chamberlin et al., 1999). Tomados en conjunto, estos estudios parecen sugerir que, además de su implicación en el procesamiento aversivo, el NPBLe también estaría implicado en los sistemas motivacionales relacionados con el procesamiento de estímulos apetitivos o recompensantes, tanto de índole natural (Wang et al., 1999b; Yamamoto & Sawa, 2000a; 2000b), como artificial (Sakai & Yamamoto, 1997; Simón et al., 2007).

En este contexto, el propósito de los siguientes experimentos ha sido examinar el efecto que sobre las preferencias por un lugar inducidas mediante la estimulación eléctrica del NPBLe pueden tener los mismos agentes farmacológicos utilizados en el capítulo anterior. En el primer experimento, se ha utilizado el antagonista D2/D3 Tiapride, dada la estrecha relación demostrada entre los sistemas opiáceos y dopaminérgico (Hernández & Appel, 1980; Bozarth & Wise, 1983; Balcells-Olivero & Vecina, 1997; Manzanedo, 2001; Santi & Parker, 2001), y también por la importante implicación del sistema dopaminérgico en el procesamiento de recompensas tanto naturales (Spyraki et al., 1982; Wise, 1982; Phillips, 2003; Ungless, 2004) como artificiales (Spyraki et al., 1983; Garris et al., 1999; Fernández-Espejo, 2002). En el segundo experimento, se ha utilizado el antagonista opiáceo Naloxona, examinando ahora su efecto sobre la conducta motora, horizontal y vertical (cruces y movimientos de alzada, respectivamente).

EXPERIMENTO 4:
PREFERENCIA POR UN LUGAR INDUCIDA MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL
SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO: ESTUDIO DE LA IMPLICACIÓN
DOPAMINÉRGICA A TRAVÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DE TIAPRIDE.

MÉTODO

Como animales experimentales se utilizaron 50 ratas macho Wistar suministradas por el servicio de animalario de la Universidad de Granada y cuyo peso oscilaba entre 280-350 gr. al inicio del estudio.

Procedimiento quirúrgico

El procedimiento quirúrgico que se ha seguido es el mismo que se ha descrito en el capítulo anterior (34 animales). También utilizaron 16 ratas que no fueron intervenidas quirúrgicamente.

Procedimiento conductual

Inicialmente, se establecieron los parámetros adecuados de la corriente de estimulación, que en este caso oscilaron entre 90 y 200 μ A.

A continuación, el procedimiento conductual se dividió en dos fases:

FASE 1: ESTABLECIMIENTO DE LA LÍNEA BASE Y CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES EN DISTINTOS GRUPOS.

En esta primera fase se utilizó un procedimiento similar al descrito en experimentos anteriores y que estaba compuesto por dos ensayos en el laberinto 1. Cada animal recibió una inyección de agua destilada equivalente a la dosis que posteriormente se administraría de tiapride. A continuación, las ratas eran situadas en el espacio central neutro del laberinto. Cada

animal permaneció en el laberinto durante 10 minutos en cada ensayo, pudiendo desplazarse libremente por él, al tiempo que se registraban los tiempos de permanencia en cada zona.

De acuerdo con los resultados obtenidos, los animales intervenidos quedaron divididos en grupos en función del efecto provocado por la estimulación eléctrica, y siguiendo los criterios expuestos en las tablas 1 y 2:

- Grupo Positivo: compuesto por 8 animales.
- Grupo Negativo: compuesto por 6 animales.
- Grupo Control/Neutro: todos los demás animales. Sin embargo, a fin de establecer un número de sujetos equivalente a los grupos anteriores, se seleccionaron al azar 7 animales que pasaremos a llamar Grupo Control Intervenido (o Implantado). Los demás, fueron excluidos del estudio.

Por su parte, los animales intactos quedaron divididos aleatoriamente en dos grupos:

- Grupo Vehículo: formado por 8 animales que recibieron una dosis agua destilada, en ambas fases.
- Grupo Intacto: constituido también por 8 animales y que recibieron idéntico tratamiento al de los grupos intervenidos, excepto la intervención (y, por ende, la estimulación eléctrica del NPBL_e).

De esta manera, el experimento 4 incluyó finalmente cinco grupos experimentales.

FASE 2: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE TIAPRIDE.

Después de 48 horas desde la primera fase de condicionamiento de preferencia por un lugar, se realiza un nuevo ensayo, esta vez en el laberinto 2, incluyendo la administración intraperitoneal (en su caso) de una dosis de 30mg./Kg de tiapride. La inyección se le administra a cada animal 30 minutos antes de que tenga lugar el inicio del ensayo conductual.

Además, en esta segunda fase se ha contabilizado el número de cruces, para comprobar los potenciales efectos del fármaco sobre la conducta locomotora.

Procedimiento histológico

Al finalizar la fase conductual del experimento, todos los animales implantados recibieron una dosis letal anestésico, más concretamente 0.25 mg. de pentotal sódico (Thiopental Sódico, Laboratorios Abbot S.A., Madrid). Tras marcar la zona de la estimulación mediante una pequeña lesión electrolítica (0.3 mA de corriente catódica continua durante 5 segundos), se llevó a cabo una perfusión transcardíaca inyectando varias soluciones de suero fisiológico y formaldehído al 10%. Los cerebros fueron extraídos del cráneo cuidadosamente y conservados en una solución de formaldehído al 10% durante varios días. Posteriormente, se laminaron secciones de aproximadamente 80 micras de grosor, con la ayuda de un vibrotomo, y fueron montadas en portaobjetos para ser teñidas con Violeta de Cresilo y fotografiadas.

RESULTADOS

El análisis de los datos obtenidos se llevó a cabo utilizando un ANOVA entre grupos, seguido por comparaciones planeadas con el paquete estadístico STATISTICA 6.0 para Windows (StatSoft, 2001; Tusla, EE.UU).

Los resultados del análisis demuestran una interacción entre las variables Grupo y Fase ($F_{(4,32)} = 5.17$, $p < 0.0025$), es decir, que existen diferencias significativas en el efecto del tratamiento aplicado en función del grupo experimental considerado. Para comprobar en qué grupo o grupos este efecto se revela significativo, se llevaron a cabo comparaciones planeadas, que permitieron comprobar que el único grupo afectado por la administración de tiapride fue el Grupo Negativo ($F_{(1,32)} = 15,9353$, $p < 0.00035$), sin que se obtengan diferencias significativas en ninguno de los otros grupos (Grupo Vehículo: $F_{(1,32)} = 1.3789$, $p < 0.2489$; Grupo Intacto: $F_{(1,32)} = 3.1213$, $p < 0.0868$; Grupo Control Intervenido: $F_{(1,32)} = 0.4010$, $p < 0.5310$; Grupo Positivo: $F_{(1,32)} = 0.0301$, $p < 0.6831$).

	Fase con vehículo	Fase con tiapride
Grupo Positivo	360,5	352,3
Grupo Negativo	143,3	362,2
Grupo Control Implantado	212,4	244,6
Grupo Control Vehículo	290	234,3
Grupo Control Intacto	336	252,1

Tabla 6. Resultados promediados del experimento 4. Los datos de esta tabla indican el tiempo medio, en segundos, de permanencia de cada grupo experimental en el compartimento asociado a la estimulación, durante las dos fases del estudio.

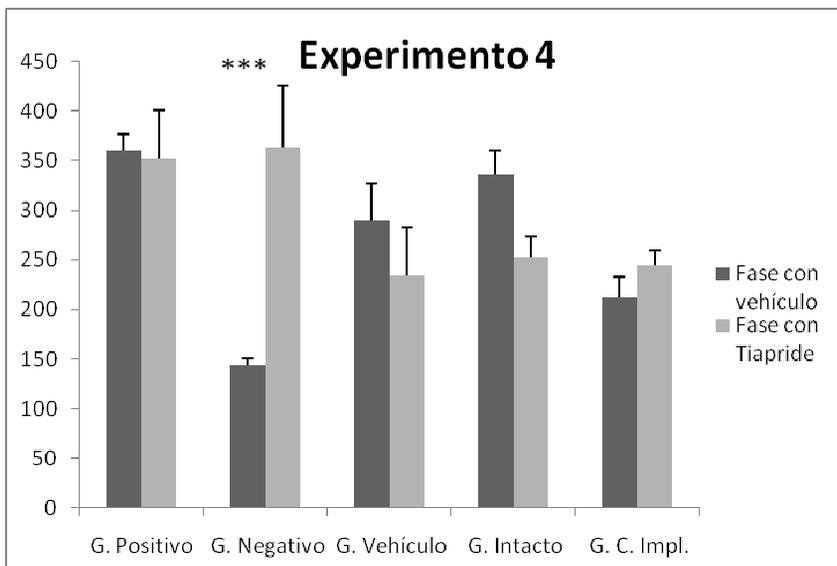
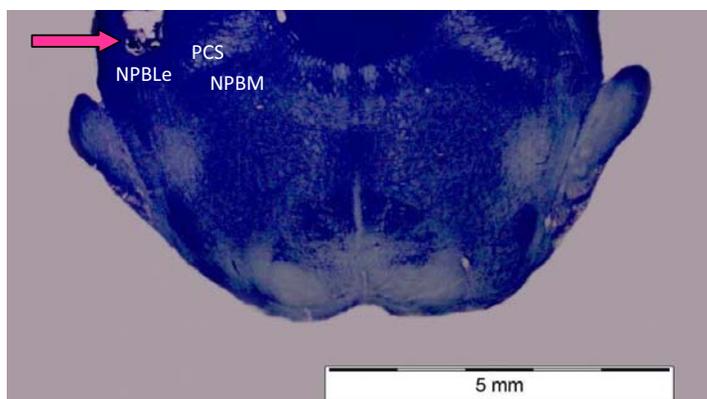


Figura 26. Representación gráfica de los resultados obtenidos en el experimento 4. La ordenada representa el promedio de tiempo en segundos que permanece cada grupo en el compartimento asociado a estimulación durante cada fase del estudio.

Con respecto a los datos relacionados con la conducta locomotora, los resultados revelan que, durante esta segunda fase, no existen diferencias significativas ($F_{(1,35)} = 0.01$, $p < 0.9208$) entre el Grupo Vehículo y los animales que reciben tiapride, lo que sugiere que el efecto producido parece no estar relacionado con los potenciales efectos secundarios del fármaco.

El análisis histológico muestra la localización del electrodo en la microfotografía 5 para un sujeto perteneciente al Grupo Negativo.



Microfotografía 5. Localización del electrodo en un sujeto perteneciente al Grupo Negativo. Abreviaturas: NPBM: Núcleo parabraquial medial; NPBLe: Núcleo parabraquial lateral externo; PCS: Pedúnculo Cerebeloso Superior.

EXPERIMENTO 5:
EFECTO DE LA NALOXONA SOBRE LAS PREFERENCIAS
POR UN LUGAR INDUCIDAS MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL
SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTENSO

MÉTODO

Los animales utilizados en este experimento fueron 44 ratas macho Wistar suministradas por el servicio de animalario de la Universidad de Granada, y cuyo peso oscilaba entre 280-350 gr. al inicio del estudio. De ellos, 25 animales fueron implantados en el NPBL_e, 9 se utilizaron como control implantado en el Hipotálamo Lateral y se añadió también un grupo de 10 roedores que no fueron sometidos a intervención quirúrgica alguna.

Procedimiento quirúrgico

El procedimiento quirúrgico empleado fue similar al descrito en el capítulo anterior. Así, tras permanecer al menos una semana en sus jaulas, se procedió a la cirugía estereotáxica, siguiendo las coordenadas del atlas de Paxinos y Watson (1990): AP: -0.16; L: +2.5; V: +3.

Una vez fijado el electrodo crónicamente con resina dental (S.R. Denture Base, Quick 3/60, Ivoclar), se les aplicaba Povidona Yodada (Betadine, Asta Médica, Madrid) y se les inyectaba intramuscularmente una dosis de 0.1 cc. de penicilina (Penilevel, Laboratorios Level, S.A., Barcelona) para prevenir infecciones, tras lo cual se les permitía recuperarse de la anestesia (Thiopental Sódico, Laboratorios Abbot S.A., Madrid) en sus jaulas.

Procedimiento conductual

En primer lugar, se procedió a establecer los parámetros de estimulación adecuados, que oscilaron entre 80 y 200 μ A, tras lo cual el experimento contó con dos fases:

FASE 1: ESTABLECIMIENTO DE LA LÍNEA BASE Y CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES EN DISTINTOS GRUPOS.

Durante las dos sesiones de la primera fase, los animales recibieron la estimulación eléctrica en uno de los compartimientos del laberinto 2 previamente fijado de manera aleatoria. Así, veinte minutos antes de comenzar cada ensayo los animales recibían una dosis de agua destilada equivalente en cantidad a la dosis que posteriormente se administraría de naloxona. Al igual que en los experimentos anteriores, los animales eran situados en el espacio central neutro, permaneciendo en el laberinto durante 10 minutos durante los que el animal podía deambular libremente por él, de manera que se registraban los tiempos de permanencia en cada zona. Se consideraba que un animal estaba dentro de uno de los compartimientos laterales cuando su cabeza y sus patas delanteras estuvieran dentro de ese compartimiento. Para el análisis estadístico, sólo se tuvieron en cuenta los tiempos que cada animal permaneció en la zona estimulada durante el segundo ensayo de esta primera fase.

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta primera fase, y siguiendo los criterios de las tablas 1 y 2, los animales quedaron divididos en tres grupos experimentales:

- Grupo estimulado: compuesto por 12 animales implantados en el NPBL e a los que la estimulación les resulta apetitiva, clasificándose como positivos según los criterios descritos en las tablas 1 y 2. Todos los animales implantados en el NPBL e que no cumplían criterios para considerarse positivos se eliminaron de este experimento.
- Grupo control intacto: compuesto por 10 diez ratas que no fueron sometidas a procedimiento quirúrgico alguno.
- Grupo control implantado en el hipotálamo lateral, compuesto por 9 animales que no recibieron estimulación en ninguna de las fases experimentales.

FASE 2: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE NALOXONA.

Cuarenta y ocho horas después, se dio comienzo a la segunda fase en la que a todos los animales se les administró naloxona 20 minutos antes de situarlos en el laberinto. La dosis utilizada fue de 4 mg/kg y se les administró subcutáneamente. A continuación se siguió el mismo procedimiento descrito en la primera fase pero ahora en un solo ensayo.

Al igual que en experimentos anteriores, y para evitar posibles interferencias adquisitivas, en esta segunda fase se utilizó el laberinto 1, modificándose además su orientación. También se utilizó ruido blanco de fondo para evitar potenciales interferencias sonoras.

Como es habitual, en todas las fases experimentales se registra el tiempo de estancia del animal en cada compartimento del laberinto, además del nivel de actividad tanto horizontal (nº de cruces) como vertical (nº de movimientos de alzada), siguiendo para ello los mismos criterios descritos en experimentos anteriores.

Procedimiento histológico

El procedimiento histológico utilizado es similar al descrito en el capítulo 1. Tras finalizar el procedimiento conductual, todos los animales implantados recibieron una dosis letal de anestésico (Thiopental Sódico, Laboratorios Abbot S.A., Madrid). Tras marcar la zona de la estimulación mediante una pequeña lesión electrolítica (0.3 mA de corriente catódica continua durante 5 segundos), se llevó a cabo una perfusión transcardial inyectando soluciones de suero fisiológico y formol. Los cerebros fueron extraídos del cráneo cuidadosamente y conservados en una solución de Formaldehído al 10% durante varios días. Posteriormente, se laminaron secciones de aproximadamente 80 micras de grosor, con la ayuda de un vibrotomo, y fueron montadas en portaobjetos para ser teñidas con Violeta de Cresilo y fotografiadas.

RESULTADOS

Para el análisis de los datos obtenidos, se utilizó un ANOVA entre grupos, seguido de comparaciones planeadas.

Los resultados obtenidos con respecto al análisis de los tiempos de permanencia en el compartimento del laberinto asociado a la estimulación demuestran una interacción significativa entre el grupo experimental y la fase del experimento ($F_{(2,28)} = 7.55$, $p < 0.0024$). Más específicamente, se comprobó que a diferencia del grupo control intacto ($F_{(1,28)} = 1.375369$, $p < 0.250773$) y el grupo control implantado ($F_{(1,28)} = 1.446262$, $p < 0.2392$), el grupo estimulado muestra un efecto significativo de la administración de naloxona ($F_{(1,28)} = 13.16481$, $p < 0.001127$).

	Fase con vehículo	Fase con naloxona
Grupo estimulado	456,4	196,6
Grupo control implantado	212,1	311,6
Grupo control intacto	268,1	360,1

Tabla 7. Resultados promediados del experimento 5. Los datos de esta tabla indican el tiempo medio, en segundos, de permanencia de cada grupo experimental en el compartimento asociado a estimulación, durante las dos fases del estudio.

El análisis de la conducta exploratoria revela que no existen diferencias significativas en la actividad horizontal ($F_{(2,28)} = 2.38$, $p < 0.114$) ni en la actividad vertical ($F_{(2,28)} = 0.47$, $p < 0.6323$) tras la administración de la naloxona, lo que sugiere que el efecto no parece estar relacionado con las teóricas consecuencias motoras inducidas por la administración del fármaco.

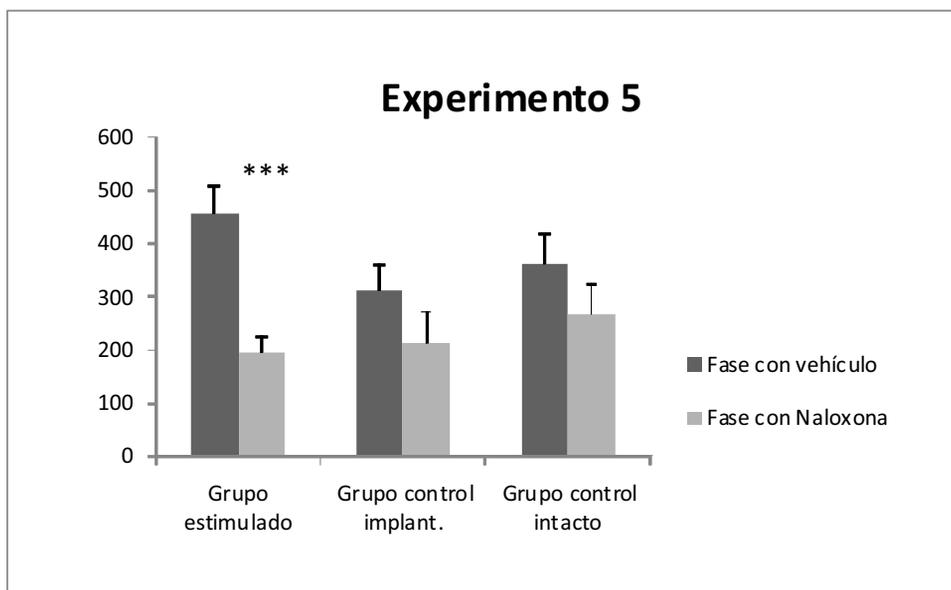


Figura 27. Representación gráfica de los resultados obtenidos en el experimento 5. La ordenada representa el promedio de tiempo en segundos que pasa cada grupo en el compartimento asociado a estimulación en cada fase del estudio.

DISCUSIÓN

Los resultados de este capítulo confirman que la estimulación eléctrica del NPBL puede inducir aprendizaje de preferencia por un lugar (Simón et al., 2007). Además, estos estudios demuestran que la administración de naloxona bloquea la preferencia por el entorno inducida por estimulación eléctrica del NPBL (experimento 5), algo que no sucede tras la administración de una dosis de 30mg/kg de tiapride (experimento 4).

Estos resultados sugieren que el NPBL está implicado en procesos de recompensa, lo que es compatible con que esta región haya sido relacionada anteriormente con situaciones y aprendizajes apetitivos (Edwards & Ritter, 1989; Ding et al., 1996; Sakai & Yamamoto, 1997; Gutstein et al., 1998; Chamberlin et al., 1999; Wang et al., 1999b; Yamamoto & Sawa, 2000a, 2000b; Zafra et al., 2002; Simón et al., 2007) y con diversas estructuras implicadas en el procesamiento de la recompensa cerebral (Fulwiler & Saper, 1984; Yamamoto et al., 1994b; Balaban & Thayer, 2001; Usuda, Tanaka & Chiba, 1998; Coizet et al., 2010; Tokita et al., 2010).

Los resultados del primer experimento de este capítulo demuestran que la administración de tiapride no consigue bloquear la preferencia por un lugar inducida mediante estimulación eléctrica del NPBL.

En principio, este resultado contrasta con el Modelo General de Anhedonia (Wise, 1982; Ungless, 2004), el cual relaciona la dopamina cerebral con el procesamiento del valor hedónico positivo de los estímulos (Wise, 1982; Ungless, 2004), de manera que el efecto inducido mediante neurolépticos en las tareas de aprendizaje apetitivo se compara con un efecto de extinción (Wise, 1982). Así, en el caso de que la administración de tiapride provocara un descenso del valor apetitivo de la estimulación eléctrica recompensante, lo esperable sería que el efecto de preferencia por un lugar así inducido hubiera quedado bloqueado. Por el contrario, los resultados obtenidos podrían explicarse en los términos propuestos recientemente para la función de la dopamina en relación con el desarrollo de las conductas motivadas, por ejemplo, la Teoría de la saliencia incentiva (Berridge, 2003; 2005; Robinson & Berridge, 2003; Robinson et al., 2005) o la Teoría de la reactividad emocional o motivacional (Chiodo et al., 1980; Salamone, 1992; 1994; Salamone et al., 1997). Estas propuestas señalan un papel de este sistema en el arousal conductual que aparece típicamente en los animales cuando son expuestos a estímulos motivacionales y que facilita la capacidad de reacción para aproximarse o evitar dichos estímulos y, en este sentido, más relacionado con conductas preparatorias que con conductas consumatorias propiamente dichas (Chiodo et al., 1980; Salamone, 1992; 1994). En efecto, la

tarea que ha sido propuesta a los animales en los experimentos aquí presentados apenas exige requerimientos para la acción, pues la recompensa se obtiene con su sola permanencia espontánea en el compartimento del laberinto asociado a estimulación.

Por otra parte, también existen diferencias entre los resultados del experimento 4 y los datos publicados por Fouriezos y Wise (1976). Estos autores consiguen bloquear la respuesta de autoestimulación eléctrica aplicada al hipotálamo lateral mediante la administración de pimozida, un antagonista dopaminérgico. Además, demuestran que el bloqueo de la conducta de autoestimulación no se debe a los efectos motores o de ejecución colaterales derivados de la administración del fármaco. La posibilidad de que existan sistemas de refuerzo diferentes no puede descartarse (Phillips, 1984), y en este sentido conviene recordar que hasta el momento presente no ha sido posible inducir conductas de autoestimulación en los animales implantados en el NPBL que, por su parte, cumplen los criterios (tablas 1 y 2) para ser considerados positivos.

En este mismo sentido, se ha descubierto que la administración de antagonistas dopaminérgicos es, en ocasiones, suficiente para disminuir la autoadministración de ciertas drogas de abuso, como la morfina y la heroína (Leone & Di Chiara, 1987; Van Ree & Ramsey, 1987; Gerrits, Ramsey, Wolterink & Van Ree, 1994), si bien la mayoría de estos autores considera que el efecto de los fármacos antipsicóticos no se debe a que bloquean los sistemas de recompensa endógenos, sino otros procesos implicados en el desarrollo de la conducta motivada más relacionados con el arousal conductual (Van Ree & Ramsey, 1987; Gerrits et al., 1994). En esta línea, también se ha demostrado que animales mutados genéticamente para producir una carencia de dopamina muestran, de hecho, conductas consumatorias cuando son expuestos a estímulos apetitivos fácilmente accesibles (Cannon & Palmiter, 2003; Cannon & Bseiki, 2004).

Por último, destacar el efecto observado en los animales negativos tras la administración de tiapride. En efecto, estos animales no sólo dejan de considerar como aversivas las claves contextuales del laberinto en corredor, sino que, si tenemos en cuenta los criterios de clasificación en función del efecto de la estimulación eléctrica propuestos en las tablas 1 y 2, los animales se vuelven positivos, es decir, desarrollan preferencia por el compartimento del laberinto asociado a la estimulación. Este resultado reproduce los resultados de los experimentos 2 y 3 del primer capítulo. Este dato abre la posibilidad de que los dos sistemas motivacionales, el aversivo y el recompensante, puedan estar estrechamente interrelacionados a nivel del NPBL. De hecho, esta interacción de sistemas se ha sugerido en otras estructuras como el Núcleo Accumbens o el Córtex Prefrontal (Salamone, 1994; Di Chiara, Loddo & Tanda,

1999; Fenu et al., 2001; Reynolds & Berridge 2002; Hajnal & Norgren 2004; Roitman, Wheeler & Carelli, 2004b; Cassaday, Horsley & Norman, 2005; Ventura, Morrone & Puglisi-Allegra, 2007).

Por su parte, los datos del Experimento 5 podrían ser explicados, al menos parcialmente, por la existencia de receptores tanto μ como κ en el complejo parabraquial (Quirion et al., 1983; Lynch et al., 1985; Mansour et al., 1994; 1995; Wolinsky et al., 1994; 1996). Así, mientras los agonistas μ y δ incrementan la liberación de dopamina en la vía mesocorticolímbica y resultan reforzantes en paradigmas de preferencia de lugar (Shippenberg & Herz, 1987) y de autoadministración, los receptores opiáceos κ provocan un descenso en la liberación de dopamina en la vía mesocorticolímbica, y además resultan aversivos en los paradigmas de condicionamiento de lugar y no suelen generar conductas de autoadministración (Mansour et al., 1995), dejando de activarse tras situaciones de estimulación nociva prolongada (Shippenberg et al., 1988c). Estos resultados sugieren que distintos tipos de receptores opiáceos podrían estar mediando los efectos apetitivo y aversivo de la estimulación eléctrica del núcleo parabraquial lateral externo.

Sin embargo, algunos estudios neuroquímicos sugieren que los receptores μ median tanto las propiedades terapéuticas y apetitivas como también las aversivas de la morfina (Matthes et al., 1996). En esta línea, se ha demostrado que la naloxona ejerce sus efectos aversivos actuando sobre los receptores opioides μ (Skoubis et al., 2001). En otras palabras, existe la posibilidad de que, de algún modo, tanto los efectos apetitivos como los aversivos de la estimulación eléctrica del NPBL estén mediados por los mismos receptores opiáceos, a saber, los receptores μ , aunque, desde luego, los receptores κ no pueden ser excluidos sin llevar a cabo nuevas investigaciones.

Por otra parte, nuestros resultados sobre aprendizaje apetitivo no coincidirían, en principio, con los aportados en los estudios de Sclafani, Bodnar y asociados, estudios en los que se utilizan sustancias naturales como estímulo recompensante. Así, este grupo de autores ha comunicado la imposibilidad de bloquear con naltrexona, un antagonista opiáceo general, el aprendizaje gustativo apetitivo inducido mediante la administración intragástrica de carbohidratos (Azzara et al., 2000) o por el sabor dulce de la fructosa (Baker et al., 2004). En esta misma línea, también se encuentran en la literatura resultados negativos al intentar bloquear el aprendizaje de preferencias por un lugar provocadas por el sabor dulce de la sacarosa mediante la administración de naltrexona (Delamater et al., 2000). La discrepancia de los presentes

resultados con estos estudios podría deberse a la utilización de un antagonista opiáceo diferente, o bien a diferencias en el procedimiento comportamental aplicado.

CAPÍTULO III:

PREFERENCIA POR UN LUGAR INDUCIDA MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO EN UNA TAREA DE APRENDIZAJE SECUENCIAL.

CAPÍTULO III:

PREFERENCIA POR UN LUGAR INDUCIDA MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO EN UNA TAREA DE APRENDIZAJE SECUENCIAL

El estudio de las propiedades motivacionales, aversivas y reforzantes, de los distintos tratamientos experimentales, naturales y artificiales, es un tema central en la Neurobiología de la Conducta. El descubrimiento de los sistemas anatómicos y neuroquímicos así como de su fisiología ha atraído el interés de la Neurociencia en general, y de la Psicobiología en particular. En este proceso ha jugado un importante papel la utilización de las distintas técnicas de análisis y medida conductual.

En este contexto, el Condicionamiento de Preferencias por un Lugar ha sido un procedimiento muy utilizado para el estudio de las propiedades motivacionales de los distintos tratamientos experimentales dentro del contexto de la investigación animal (por ejemplo, MacKey & Van der Kooy, 1985; MacKey, Sélér & Van der Kooy, 1986; Leone & Di Chiara, 1987; Bilsky et al., 1990; Trujillo, Belluzzi & Stein, 1991; Masukawa et al., 1993; Suzuki & Misawa, 1995; Olmstead & Franklin, 1996; Delamater et al., 2000; Walker & Ettenberg, 2007). Así, este procedimiento ha sido particularmente utilizado para analizar las propiedades motivacionales de las distintas drogas de abuso. De hecho, los datos disponibles sugieren que el condicionamiento de preferencias por un lugar es una herramienta muy sensible para medir las propiedades reforzantes de la morfina (MacKey & Van der Kooy, 1985; MacKey, Sélér & Van der Kooy, 1986; Leone & Di Chiara, 1987; Bilsky et al., 1990; Suzuki & Misawa, 1995; Olmstead & Franklin, 1996;

Maldonado et al., 1997; Xu, Wang, Wu & Pei, 2001; Rezayof et al., 2002; 2003; Milekic, Brown, Castellini & Alberini, 2006), si bien existen algunos resultados contradictorios al respecto (por ejemplo, Schiltein, Agmo, Huston & Schwarting, 1998). Lo mismo sucede con otras drogas de abuso, como las anfetaminas (MacKey & Van der Kooy, 1985; Leone & Di Chiara, 1987; Trujillo, Belluzzi & Stein, 1991; Masukawa et al., 1993; Suzuki & Misawa, 1995; Olmstead & Franklin, 1996), el etanol (Walker & Ettenberg, 2007) y la cocaína (MacKey et al., 1985; Masukawa et al., 1993; Kaddis et al., 1995; Suzuki & Misawa, 1995; Kuzmin et al., 1997; Schiltein et al., 1998; Xu et al., 2001; Baunez et al., 2005). Estos últimos resultados parecen implicar, de algún modo, una cierta interacción con el sistema opiáceo, ya que diversos estudios han obtenido una reducción de la preferencia por un lugar inducida con cocaína, anfetamina, etanol, nicótica y barbitúricos mediante la administración de naloxona (Badawy, Evans, Punjani & Morgan, 1983; Trujillo et al., 1991; Kuzmin et al., 1997).

En cualquier caso, la prueba de condicionamiento de preferencias por un lugar puede ser utilizada de diversas maneras y, así, en esta Tesis Doctoral se han empleado dos modalidades, el condicionamiento por un lugar concurrente o a corto plazo (CPPc) y el tradicional condicionamiento de preferencias por un lugar de tipo secuencial (CPP). Este primer tipo ha sido descrito en capítulos anteriores y, como puede recordarse, en cada sesión el animal dispone de la posibilidad de elegir entre los compartimentos del laberinto rectangular, en uno de los cuales recibe estimulación eléctrica intracerebral al acceder a él. Por su parte, en el procedimiento secuencial, el animal es situado, en días alternos, en el compartimento A del laberinto o en el compartimento B, donde recibe (de manera contrabalanceada) un tratamiento determinado o un tratamiento control. En la prueba final, se ofrece al animal la posibilidad de elegir entre ambos compartimentos y el tiempo de estancia en cada uno es contabilizado, estimando así su preferencia y la capacidad reforzante del tratamiento investigado.

Estudios previos, dentro de la temática del aprendizaje aversivo gustativo, han demostrado que estas dos modalidades de aprendizaje, concurrente y secuencial, utilizan como sustrato distintos sistemas neurobiológicos. Concretamente, el aprendizaje aversivo gustativo concurrente parece ser dependiente de la vía vagal, la división parabraquial medial, el NPBL e y los circuitos del cerebelo (Fulwiler & Saper, 1984; Arnedo et al., 1993; Agüero et al., 1997; Mediavilla et al., 2000; Zafra et al., 2002; Simón, 2003; Simón et al., 2007; 2008; 2009), mientras que el aprendizaje secuencial parece independiente de esta vía, requiriendo más bien la integridad de estructuras como el área postrema y la división parabraquial lateral (Gallo et al., 1991; Agüero et al., 1993b). Resultados más recientes, han demostrado la relevancia del NPBL e

exclusivamente en la modalidad de aprendizaje gustativo concurrente, tanto de índole aversiva (Mediavilla et al., 2000) como apetitiva (Zafra et al., 2002).

En este contexto, el objetivo del experimento 6 ha consistido en analizar la posibilidad de inducir conductas de preferencia o aversión hacia un lugar mediante la estimulación eléctrica del PNBL, una región parabraquial que, recordemos, sólo ha sido relacionada con los aprendizajes gustativos concurrentes (Mediavilla et al., 2000; Zafra et al., 2002), pero ahora en tareas de condicionamiento de lugar de tipo secuencial. Para ello, todos los animales, tanto positivos como negativos, son sometidos a pruebas de adquisición siguiendo las características de ambas modalidades procedimentales de aprendizaje. En primer lugar, los animales fueron sometidos a una tarea de aprendizaje secuencial de preferencia/aversión hacia un lugar "a ciegas" antes de ser clasificados, y desconociendo inicialmente su carácter positivo, negativo o neutro, evitando así cualquier tipo de sesgo en el desarrollo de este tipo de aprendizaje secuencial. Sólo posteriormente se procedió a realizar la prueba de condicionamiento por un lugar concurrente, que permite distribuir a los animales en grupos según su comportamiento y los criterios conductuales utilizados en esta Tesis (Tabla 1). De acuerdo con los datos obtenidos en la prueba concurrente (los primeros en ser analizados y presentados), los animales serán distribuidos para constituir los distintos grupos, en función de la preferencia/aversión que muestren por la estimulación eléctrica intracerebral, y de acuerdo con ese resultado se analizarán los datos obtenidos de la Tarea secuencial.

EXPERIMENTO 6:
PREFERENCIA POR UN LUGAR INDUCIDA MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA
DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO EN UNA
TAREA DE APRENDIZAJE SECUENCIAL

MÉTODO

Para realizar este experimento se utilizaron 33 ratas macho Wistar suministradas por el servicio de animalario de la Universidad de Granada, y cuyo peso oscilaba entre 280-350 gr. al inicio del estudio. De estos animales, se intervinieron quirúrgicamente 26 mientras que 7 de ellos permanecieron intactos.

Procedimiento quirúrgico

El procedimiento quirúrgico fue similar al descrito en capítulos anteriores.

Una vez habituados a su nuevo entorno, todos los animales intervenidos fueron sometidos a cirugía estereotáxica (Stoelting, modelo 511.600, USA), para implantarles electrodos crónicos que permitieron la estimulación eléctrica del NPBL. Las coordenadas utilizadas fueron obtenidas a partir del atlas de Paxinos y Watson (1990): AP: -0.16; L: \pm 2.5; V: +3.0.

Tras finalizar el proceso quirúrgico, los animales permanecieron al menos una semana en sus jaulas antes de comenzar el procedimiento conductual.

Procedimiento conductual

En primer lugar, y como ya es habitual en esta Tesis, se procedió al establecimiento de la intensidad de corriente adecuada para cada animal, y que finalmente osciló entre 80 y 220 μ A. Posteriormente, el experimento quedó subdividido en cuatro **fases**:

FASE 1: ESTABLECIMIENTO DE LA LÍNEA BASE.

Durante esta primera fase, se permitió a todos los animales (veintiséis intervenidos y siete intactos) deambular durante 10 minutos por el laberinto 3, el cual será utilizado posteriormente en todas las fases experimentales restantes. El objetivo de esta primera fase ha sido facilitar que el animal se pudiera habituar a las claves contextuales que forman parte de este laberinto. Durante esta fase, ninguno de los animales recibió estimulación eléctrica intracerebral.

FASE 2: CONFINAMIENTO.

Transcurridas 48 horas desde la fase anterior, todos los animales fueron sometidos a cuatro **ensayos confinados** en un compartimento u otro del laberinto de manera contrabalanceada: durante el primer ensayo, se situó a un grupo de animales en el lugar asociado a la estimulación, y en el cual se les administraba estimulación eléctrica en el núcleo parabraquial lateral externo (grupos intervenidos). Transcurridas 24 horas, se introducía a estos mismos animales en el otro compartimento del laberinto sin que ahora se les aplicara estimulación eléctrica alguna. Este mismo procedimiento de confinamiento se repetía una vez más. En todos los casos, los animales permanecían confinados en el compartimento correspondiente durante 20 minutos en cada ensayo.

FASE 3: PRUEBA DE ELECCIÓN DE LUGAR TRAS EL CONFINAMIENTO.

Tras 48 horas desde la segunda fase, se da comienzo a la prueba de elección tras el confinamiento y que consistió en permitir al animal deambular libremente por el laberinto a partir de la posición central del mismo, contabilizando a continuación el tiempo de permanencia en cada compartimento. Ninguno de los animales recibe estimulación eléctrica durante esta tercera fase.

Este procedimiento constituye un ejemplo de condicionamiento de preferencias por un lugar (modalidad secuencial o a largo plazo) que es el habitualmente utilizado en la investigación animal (por ejemplo, en los estudios con reforzadores naturales de Bechara et al., 1992; Delamater et al., 2000; Spiteri et al., 2000; Duarte et al., 2003; Papp et al., 2002), y más

concretamente en tareas de aprendizaje de preferencias inducido por las drogas de abuso (Van der Kooy et al., 1982; MacKey & Van der Kooy, 1985; MacKey, S  ller & Van der Kooy, 1986; Leone & Di Chiara, 1987; Bilsky et al., 1990; Suzuki & Misawa, 1995; Olmstead & Franklin, 1996; Rezayof et al., 2002; 2003; Zarrindast et al., 2003; Baunez et al., 2005; Milekic, Brown, Castellini & Alberini, 2006; Walker & Ettenberg, 2007).

FASE 4: INDUCCIÓN DE APRENDIZAJE CONCURRENTE (CPPc) MEDIANTE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS GRUPOS.

En esta última fase, y también en el laberinto 3, se realizó una prueba de aprendizaje concurrente de preferencia/aversión hacia un lugar, es decir, un procedimiento similar al descrito en los capítulos 1 y 2 de esta Tesis Doctoral y que en función de los resultados obtenidos determinara la constitución de los grupos. En otras palabras, y como se mencionaba más arriba, y con el fin de que en este estudio los animales no tuvieran experiencia previa en tareas de condicionamiento por un lugar concurrente, la prueba secuencial se llevó a cabo de manera “ciega”, es decir, sin conocer la pertenencia de cada animal a un grupo u otro del estudio.

En este caso, los animales fueron situados de nuevo en el espacio central del laberinto rectangular y se les permitió deambular libremente por él durante 10 minutos. Sin embargo, en el momento en que entraban en el compartimento previamente fijado para estimulación cerebral recibían estimulación eléctrica en el NPBL, mientras que si, por el contrario, permanecían en el espacio central o en el otro compartimento, los animales no recibían ningún tipo de estimulación. En este ensayo se contabiliza el tiempo de estancia en cada zona del laberinto.

Procedimiento histológico

Tras ser profundamente anestesiados (Thiopental Sódico, Laboratorios Abbot S.A., Madrid), los animales intervenidos recibieron una pequeña lesión electrolítica (0.3 mA de corriente catódica continua durante 5 segundos) a través del electrodo de estimulación eléctrica intracerebral. Una vez extraído el cerebro y conservado en una solución de formaldehido al 10%, se laminaron secciones de aproximadamente 80 micras de grosor y fueron montadas en portaobjetos para ser teñidas con Violeta de Cresilo y fotografiadas

RESULTADOS

El experimento 6 consta de dos partes diferenciadas: las fases que conforman un procedimiento de condicionamiento de preferencia por un lugar secuencial (primera, segunda y tercera); y la cuarta fase que se corresponde con el procedimiento concurrente.

Esta última fase (cuarta) es, como se ha venido proponiendo, la empleada para la distribución de los animales intervenidos quirúrgicamente en los distintos grupos en función de las preferencias mostradas por la estimulación eléctrica intracerebral (criterios comportamentales de la tabla 1). La prueba de condicionamiento hacia un lugar concurrente determinará la constitución de los grupos y el posterior análisis de los datos obtenidos “a ciegas” durante la prueba de CPP secuencial (Tabla 8; Figura 28):

Grupos, establecidos a partir de los resultados obtenidos en la fase de condicionamiento hacia un lugar concurrente	Tiempo medio de estancia en CPPc
Grupo Positivo	494.27
Grupo Negativo	78.80
Grupo Control Implantado	231.80
Grupo Control Intacto	262.57

Tabla 8. Se presenta el tiempo medio de estancia de cada grupo en el compartimento asociado a la estimulación intracerebral durante la cuarta fase del experimento 6, es decir, durante la prueba de condicionamiento hacia un lugar concurrente.

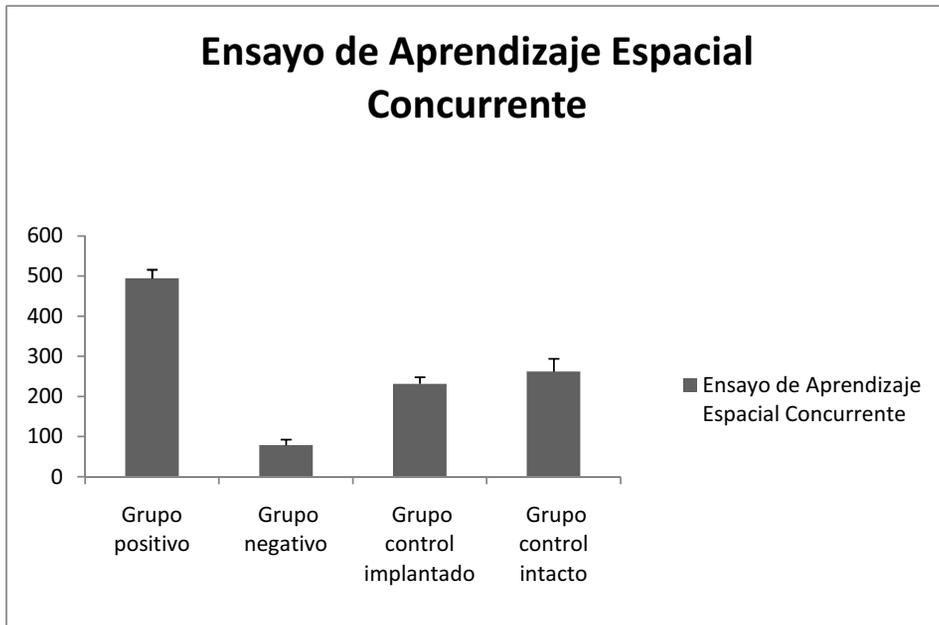


Figura 28. Representación gráfica de los resultados obtenidos en el Experimento 6. La ordenada representa el promedio de tiempo en segundos que ha permanecido cada grupo durante el ensayo de aprendizaje espacial concurrente, la cuarta fase del estudio.

Como resultado de la cuarta fase experimental, los animales quedaron distribuidos en 4 grupos de acuerdo con los criterios conductuales recogidos en la tabla 1:

- Grupo Positivo: compuesto por 11 animales cuyo comportamiento se ajustaba a los criterios, descritos en la tabla 1, y pasaron a ser considerados “positivos” en este ensayo de aprendizaje concurrente de preferencia por un lugar.
- Grupo Negativo: compuesto por 10 animales que se correspondía con los criterios adscritos a los sujetos experimentales “negativos” (tabla 1).
- Grupo Control Intervenido: compuesto por 5 animales que se comportaban según los criterios de la tabla 1 para las ratas controles/neutras.
- Grupo Control Intacto: compuesto por 7 animales, que no fueron intervenidos quirúrgicamente.

Una vez finalizado el procedimiento conductual y establecidos los grupos de animales de acuerdo con los resultados obtenidos en la prueba concurrente, se procedió a analizar los resultados de la prueba de aprendizaje espacial secuencial. El ANOVA entre grupos de los datos obtenidos de aplicar el Aprendizaje secuencial de preferencia/aversión hacia un lugar revela un efecto principal tanto del grupo ($F_{(3,29)}= 4.9392$; $p<0.0068$) como de la fase experimental ($F_{(1,29)}=9.0417$; $p<0.0054$), pero no de la interacción ($F_{(3,29)}=2.5392$; $p<0.0759$).

Grupo	Ensayo de Línea Base CPP	Prueba de elección CPP
Grupo Positivo	217.36	364.36
Grupo Negativo	174.80	203.80
Grupo Control Implantado	199.00	222.20
Grupo Control Intacto	213.43	261.29

Tabla 9. Resultados promediados de las fases 1 y 3 del experimento 6. Estos resultados indican el tiempo medio en segundos que cada grupo permanece en el compartimento asociado a estimulación intracerebral antes y después de la fase de confinamiento de la prueba de Condicionamiento hacia un lugar de tipo secuencial.

Asimismo, el ANOVA general entre grupos realizado con los datos obtenidos en la fase de elección del Aprendizaje Espacial secuencial muestra un efecto significativo ($F_{(3,29)}=5.47$; $p<0.0042$). Concretamente, las comparaciones planeadas revelan una diferencia significativa en la ejecución del Grupo Positivo y el Grupo Negativo ($F_{(1,29)}=14.4240$; $p<0.0007$), así como entre el Grupo Positivo y el Grupo Control Intacto ($F_{(1,29)}=4.8548$; $p<0.0357$) y entre el Grupo Positivo y el Grupo Control Implantado ($F_{(1,29)}=7.4206$; $p<0.0108$), pero no existen diferencias significativas entre las demás comparaciones posibles: entre el Grupo Negativo y el Grupo Control Intacto ($F_{(1,29)}=1.4534$; $p<0.2377$), entre el Grupo Negativo y el Grupo Control Implantado ($F_{(1,29)}=0.1205$; $p<0.7377$), ni entre los dos grupos control ($F_{(1,29)}=0.4759$; $p<0.4958$). Estos datos sugieren que los animales negativos se comportan de manera idéntica a los controles en las pruebas secuenciales de aprendizaje espacial.

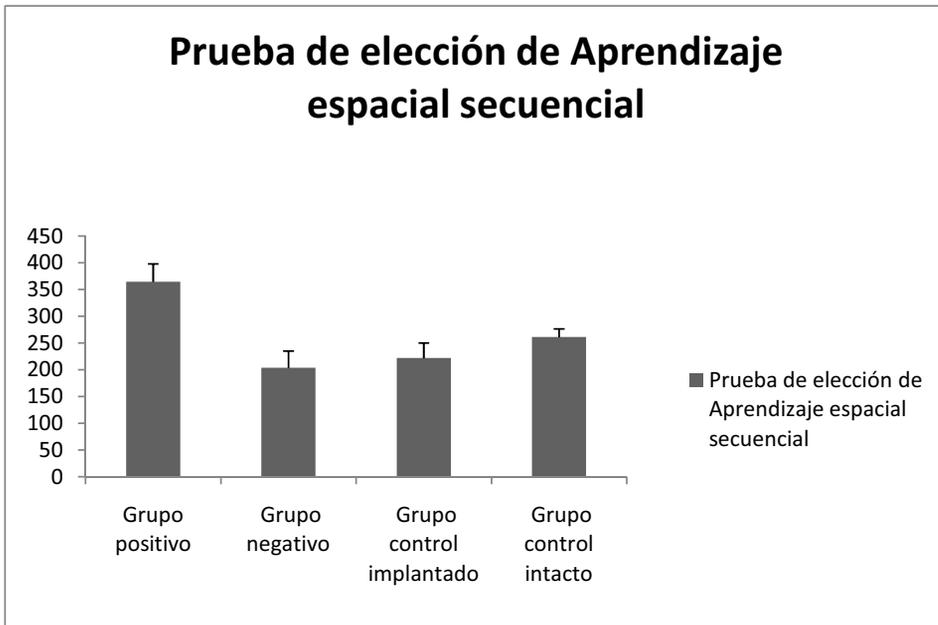


Figura 29. Representación gráfica de los resultados obtenidos en el Experimento 6. La ordenada representa el promedio de tiempo en segundos que ha permanecido cada grupo durante la prueba de elección de aprendizaje espacial secuencial.

Al realizar el ANOVA incluyendo las fases 1 y 3, se observa un efecto principal del grupo ($F_{(3,29)}=4.9392$, $p<0.0068$) y un efecto principal de la fase ($F_{(1,29)}=9.0417$, $p<0.0054$), pero no un efecto de interacción ($F_{(3,29)}=2.5392$, $p<0.0759$). Las comparaciones planeadas muestran que mientras en el Grupo Positivo existen diferencias significativas entre el ensayo de línea base y la prueba de elección de confinamiento ($F_{(1,29)}=18.7947$; $p<0.0002$), no existen diferencias ni en el Grupo Negativo ($F_{(1,29)}=0.665$; $p<0.4215$), en el Grupo Control Implantado ($F_{(1,29)}=0.2128$; $p<0.6480$) ni tampoco en el Grupo Control Intacto ($F_{(1,29)}=1.2676$; $p<0.2694$).

Por último, se realizó un análisis de correlaciones entre los datos obtenidos en las dos modalidades de condicionamiento de preferencia/aversión hacia un lugar, concurrente y secuencial, por todos los animales implantados, revelándose una correlación significativa de $r = 0.53$, con una $p<0.006$.

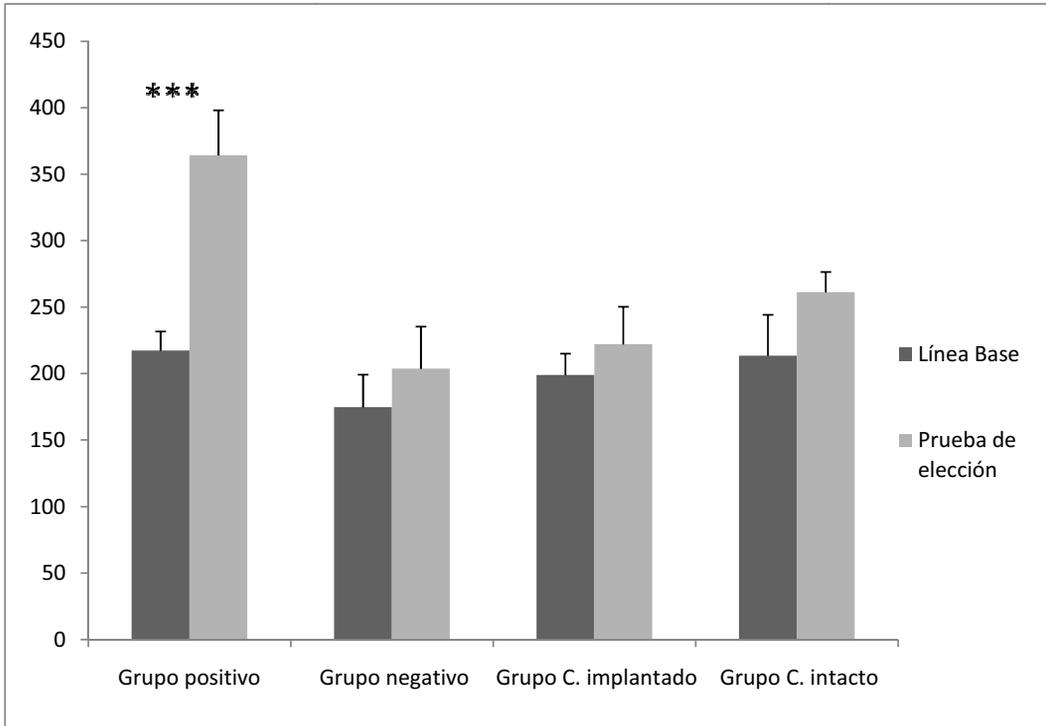
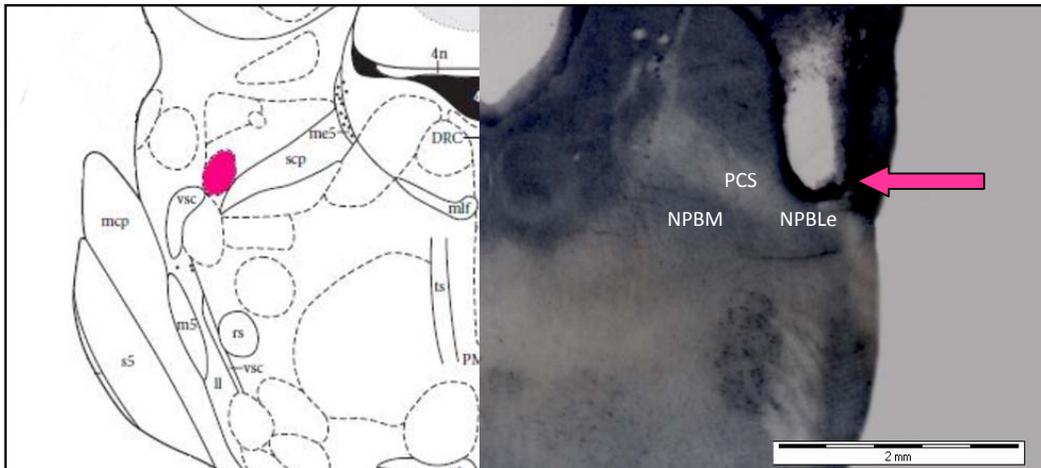


Figura 30. Representación gráfica de los resultados obtenidos en el experimento 6. La ordenada representa el promedio de tiempo en segundos invertido por cada grupo en el compartimento asociado a la estimulación eléctrica del NPBLe durante la línea base y la prueba de elección.

Los resultados del análisis histológico se muestran en la siguiente lámina de un corte cerebral, perteneciente a un sujeto experimental del Grupo Positivo (Microfotografía 7).



Microfotografía 7. Localización del electrodo en un sujeto perteneciente al Grupo Positivo. Abreviaturas: NPBM: Núcleo parabraquial medial; NPBLe: Núcleo parabraquial lateral externo; PCS: Pedúnculo Cerebeloso Superior.

DISCUSIÓN

Los resultados del experimento 6 demuestran la posibilidad de inducir, también ahora, conductas de preferencia por un lugar mediante estimulación eléctrica del NPBL utilizando en este caso un procedimiento secuencial. Sin embargo, esto no ocurre en el caso de la aversión hacia un lugar inducida por estimulación de este mismo subnúcleo parabraquial que, sin embargo, sí se logra utilizando procedimientos concurrentes.

En el caso de estos últimos resultados (conducta aversiva o de evitación), no se observa una reducción del tiempo de estancia en el compartimento del laberinto en el que reciben la estimulación aversiva de manera inevitable. Se han propuesto diversas posibilidades teóricas que nos permiten entender estos resultados.

Inicialmente, existe la posibilidad de que la estrecha proximidad anatómica existente entre los sistemas motivacionales aversivo y apetitivo (Salamone, 1994; Di Chiara et al., 1999; Fenu et al., 2001; Reynolds & Berridge 2002; Hajnal & Norgren 2004; Roitman et al., 2004b; Cassaday et al., 2005; Ventura et al., 2007) pueda haber permitido que la estimulación aplicada a estos animales haya activado simultáneamente componentes de ambos sistemas, con lo cual el efecto esperable puede ser mixto o ambivalente, tal y como se observa en el grupo negativo del experimento 6.

Por otra parte, podría proponerse, alternativamente, que en este mismo grupo el electrodo ha podido desplazarse fuera del NPBL. Sin embargo, a la luz de los resultados del examen histológico, esta posibilidad parece poco probable.

Más probable es el hecho de que la aversión inducida en este grupo de animales pueda ser poco adecuada para sustentar el aprendizaje de tareas de tipo secuencial. En efecto, diversos experimentos previos en el campo del aprendizaje de discriminación gustativa han demostrado que el NPBL parece estar implicado exclusivamente con los aprendizajes de tipo concurrente, pero no en los de índole secuencial o explícitos (Zafra et al., 2002; Mediavilla et al., 2005; Simón et al., 2007).

Resulta relevante destacar la diferenciación teórica propuesta entre el denominado aprendizaje concurrente y el aprendizaje secuencial, descrita en apartados anteriores, en el contexto del aprendizaje de discriminación gustativa (Mediavilla et al., 2001; 2005; Zafra et al., 2002; De la Torre & Agüero, 2008; 2009). En el caso del aprendizaje aversivo gustativo, el procedimiento de aprendizaje secuencial o a largo plazo (ver páginas 85 y 86) permite introducir

demoras temporales entre el estímulo gustativo y sus consecuencias, puede establecerse en un único ensayo, existe predisposición estimular y es muy flexible. Por todo ello ha sido considerado como una modalidad de aprendizaje explícito (Mediavilla et al., 2001; 2005). Por el contrario, el procedimiento de aprendizaje concurrente o a corto plazo (ver páginas 85 y 86) da lugar a un aprendizaje rígido (no flexible) y requiere continuidad interestimular y un determinado número de ensayos. Por todas estas circunstancias, ha sido considerado como un aprendizaje de tipo procedimental, implícito (Mediavilla et al., 2005).

Quizá esta disociación pueda aplicarse también en el caso del condicionamiento de preferencias por un lugar, correspondiendo el procedimiento descrito en los capítulos anteriores a un tipo de aprendizaje concurrente, mientras que el procedimiento descrito en las fases 1, 2 y 3 del presente experimento se corresponda con un aprendizaje de tipo secuencial.

Como se indicaba en la introducción, estudios previos de este laboratorio han demostrado que estas dos modalidades de aprendizaje se sustentan en distintos sistemas neurales. Así, cabe la posibilidad de que ahora también estas dos modalidades de aprendizaje puedan estar mediadas por neurotransmisores también diferentes, y que, dado que en nuestros experimentos (en ambas modalidades de aprendizaje) la estimulación eléctrica siempre es aplicada de manera simultánea a la presentación de los estímulos del entorno, la activación del NPBL ha podido activar algún sistema neurobiológico motivacional en el que el solapamiento temporal entre el estímulo reforzante y los estímulos del entorno sea decisiva.

En cualquier caso, a diferencia del resultado negativo, resulta llamativo que la estimulación eléctrica del NPBL sí consiga inducir comportamientos de preferencia por un lugar en tareas de tipo secuencial, cuando este subnúcleo parabraquial ha sido asociado exclusivamente a aprendizajes de tipo concurrente. Una explicación a este resultado, podría ser que el efecto de preferencia por un lugar condicionada en las tareas secuenciales podría deberse a que la estimulación de las células del sistema motivacional apetitivo han podido movilizar mecanismos opiáceos en el núcleo parabraquial (Engström et al., 2001). En este sentido, los resultados obtenidos recuerdan a los estudios con drogas de abuso, y más específicamente con morfina, cuya administración genera un potente efecto incondicionado en tareas de condicionamiento de preferencia por un lugar de tipo secuencial (MacKey & Van der Kooy, 1985; MacKey, Sëller & Van der Kooy, 1986; Leone & Di Chiara, 1987; Suzuki & Misawa, 1995; Olmstead & Franklin, 1996; Maldonado et al., 1997; Xu, Wang, Wu & Pei, 2001; Rezayof et al., 2002; 2003; Milekic, Brown, Castellini & Alberini, 2006). Existen pocos datos sobre la inducción de aversión hacia un lugar inducida por estas mismas sustancias (Bechara & Van der

Kooy, 1987; Bechara, Zito & Van der Kooy, 1987; Bechara, Martin, Pridgar & Van der Kooy, 1993), las cuales, sin embargo, pueden dar lugar a claros y manifiestos efectos aversivos cuando las pruebas experimentales utilizadas se valen de tareas de aprendizaje aversivo gustativo (Bechara et al., 1993; Davis, Rice & Riley, 2009; Liu, Showalter & Grigson, 2009).

Para terminar, otra cuestión clave con respecto a este estudio es el tipo de aprendizaje implicado en estas dos modalidades de condicionamiento de preferencias por un lugar. Mientras que parece claro que en el condicionamiento concurrente los mecanismos de aprendizaje utilizados tienen un mayor componente de tipo instrumental, pues durante la fase de aprendizaje el animal puede comprobar las consecuencias de entrar a uno y otro compartimento del laberinto y no se aplica una fase de prueba, en el caso del condicionamiento secuencial resulta más controvertido. Aunque pudiera parecer en un principio que el animal asocia las claves del contexto con las consecuencias motivacionales de la estimulación de manera pasiva, mediante un condicionamiento de tipo clásico, ya que el animal queda confinado en un compartimento determinado del laberinto, la ejecución que en la fase de prueba de este experimento 6 exhibe el animal pone de manifiesto que el aprendizaje que ha tenido lugar es flexible. Durante la fase de aprendizaje el animal está confinado a un lado u otro del laberinto, de manera que no tiene acceso al resto. Sin embargo, durante la prueba, el animal se introduce en la zona central del mismo, pudiendo percibir el laberinto completo. Es decir, las circunstancias en las que el animal aprende y las circunstancias en las que se le requiere el recuerdo de lo aprendido son completamente diferentes y, aún así, el animal escoge correctamente, mostrando así una flexibilidad conductual no compatible con un aprendizaje implícito en sentido estricto (Lee & Vakoch, 1996; Cañas, Quesada & Antolí, 1999). Estas observaciones podrían ser compatibles con una hipótesis según la cual se produjera, en el momento de la prueba, una transferencia del aprendizaje clásico (implícito) a una ejecución de tipo explícita.

En este sentido, existen en la literatura abundantes datos sobre transferencias en el aprendizaje. Por ejemplo, se ha ideado un paradigma de transferencia pavloviano-instrumental que examina el papel modulador de las claves asociadas a recompensas sobre las conductas instrumentales de búsqueda de recompensa aprendidas de manera independiente (Corbit, Janak & Balleine, 2007), un proceso de transferencia que podría ser clave en el condicionamiento de preferencias por un lugar secuencial. En este paradigma de transferencia pavloviano-instrumental, los sujetos experimentales reciben dos tipos de entrenamiento. Por una parte, se asocian claves discretas (por ejemplo, un tono o una luz) a una recompensa determinada, y de

manera independiente se entrena al animal en una conducta instrumental para conseguir la misma recompensa. En la fase de prueba, se valora el impacto de las claves asociadas clásicamente a la recompensa sobre la ejecución en la tarea instrumental. Los resultados generalmente muestran que la presentación de estos estímulos predictivos eleva la respuesta instrumental dirigida a conseguir la recompensa (Corbit & Balleine, 2005; Corbit & Janak, 2007b; Corbit, Janak & Balleine, 2007). Esta transferencia debe integrar múltiples asociaciones, como la asociación entre la respuesta y el resultado, entre el estímulo y el resultado, así como la evaluación de la congruencia entre estas asociaciones. Así, no es sorprendente que varias estructuras neuroanatómicas contribuyan en su generación, como son el estriado dorsal lateral, el área tegmental ventral o el córtex orbitofrontal (Corbit & Janak, 2007b; Corbit, Janak & Balleine, 2007; Ostlund & Balleine, 2007).

Además, se ha conseguido reproducir esta transferencia pavloviana-instrumental utilizando como recompensa el etanol (Corbit & Janak, 2007a), lo que confirma que las claves clásicamente asociadas a la administración de ciertas drogas de abuso pueden energizar las conductas instrumentales de búsqueda de estas sustancias.

Por otra parte, existe una clasificación de la memoria basada en sus características conductuales y las estructuras neuroanatómicas implicadas, que distingue entre memoria implícita y explícita (Schacter, 1992; Morgado, 2005; Machado et al., 2008), si bien hay quien aconseja tomarla con precaución (Aguado-Aguilar, 2001; Morgado, 2005). Así, la Memoria Implícita se refiere a la información que nos permite formar hábitos cognitivos y motores. Suele ser una memoria fiel, rígida y duradera, derivada de tipos de aprendizaje básico y filogenéticamente antiguos, como la habituación y la sensibilización, el aprendizaje perceptivo y motor, o los condicionamientos clásico e instrumental (Schacter, 1992; Morgado, 2005; Machado et al., 2008). Su ejemplo prototípico sería el miedo condicionado. Por su parte, la Memoria Explícita es el almacenamiento cerebral de hechos y eventos. Se expresa conscientemente y es fácil de declarar verbalmente o por escrito, lo que le ha valido también, en humanos, el nombre de memoria declarativa. A diferencia de la memoria implícita, este tipo de memoria puede adquirirse en uno o pocos ensayos y tiene como destacada particularidad poder expresarse en situaciones y modos diferentes a los del aprendizaje original (Schacter, 1992; Morgado, 2005; Machado et al., 2008). Sería el caso, por ejemplo, del aprendizaje que nos permite orientarnos espacialmente.

Estos dos sistemas de memoria trabajan de manera interactiva en algunas situaciones, como por ejemplo, en la modulación emocional de la memoria declarativa (McGaugh, 2004; Roozendaal, Barsegyan & Lee, 2008). En este sentido, quizá en el condicionamiento por un lugar secuencial también se produzca algún tipo de transferencia entre la fase de adquisición, considerada de condicionamiento clásico por la mayoría de los autores (Everitt & Robbins, 2005; Kenny, 2007), y la fase de prueba, que contiene características propias de los aprendizajes de tipo explícito.

CAPÍTULO IV:

EFICACIA RECOMPENSANTE DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA REPETIDA DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO Y DE LA CORTEZA INSULAR.

CAPÍTULO IV:

EFICACIA RECOMPENSANTE DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA REPETIDA DEL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO Y DE LA CORTEZA INSULAR

La estimulación eléctrica del NPBL así como de la Corteza Insular Agranular Posterior genera preferencias por los entornos estímulares con los que es asociada durante la realización de tareas de condicionamiento de preferencias por un lugar (García, 2009; Experimentos 4, 5 y 6 de esta Tesis Doctoral). Sin embargo, estudios previos llevados a cabo en nuestro laboratorio han mostrado una reducción significativa de la preferencia hacia estímulos gustativos asociados con la estimulación eléctrica repetitiva de la Corteza Insular Agranular Posterior (García, 2009). Este resultado contrasta con la conducta habitual mostrada por los animales sometidos a tareas de AEIC, ya que desde su descubrimiento en 1954 por James Olds y Peter Milner, no se tiene constancia de una disminución en la tasa de respuesta de los animales tras largos periodos de AEIC. De hecho, los animales mantienen altas tasas de respuesta de AEIC durante largos periodos de tiempo, antes de quedar físicamente exhaustos (Routtenberg & Lindy, 1965; Spies, 1965). Llamativamente, y a pesar de mantener este alto ritmo de respuesta, los roedores “se olvidan” (“drive decay”) de presionar el pedal de autoestimulación después de introducir breves intervalos en los que se desconecta la corriente eléctrica (Seward et al., 1959; Gallistel, 1973). Posteriormente, la reiniciación de la conducta de autoestimulación se logra fácilmente cuando el experimentador incita (*priming*) la respuesta de la rata, suministrando unos pulsos de corriente eléctrica al animal de manera no contingente con la presión de palanca. En estas condiciones, los animales vuelven a presionar el pedal de nuevo a un ritmo habitualmente elevado (Wetzel, 1963; Stellar & Gallistel, 1975).

Alternativamente, cuando se utilizan procedimientos instrumentales valiéndose de reforzadores naturales (alimento, agua) se produce saciación, con el consiguiente descenso progresivo en la tasa de respuesta. Como se indicaba anteriormente, esto no sucede en el caso de la autoestimulación eléctrica intracerebral y, en este sentido, conviene insistir que tras cincuenta años de intensa investigación del fenómeno nunca se han conocido casos claros de saciación o tolerancia (Olds, 1958; Wise & Rompré, 1989).

En esta línea, existen, sin embargo, ciertos datos experimentales recientes que parecen apuntar que la estimulación eléctrica intracerebral recompensante puede provocar un descenso en su efectividad para mantener altos niveles de autoestimulación cerebral (Hernández et al., 2006). En efecto, estos autores demuestran que la estimulación recompensante del Haz Prosencefálico Medial puede sostener un incremento significativo en la concentración dopaminérgica del Núcleo Accumbens durante periodos de más de dos horas. Sin embargo, cuando los trenes de corriente eléctrica son muy frecuentes (en este caso, cada 1,5 seg.), los niveles dopaminérgicos se incrementan durante los primeros 40 minutos, para posteriormente volver a la línea base. Además, demuestran que los animales requieren mayor intensidad en los pulsos de corriente eléctrica para tener la misma ejecución después de haber recibido 6 sesiones (de 2 horas de duración) de estimulación con una frecuencia de 1,5 seg., en días consecutivos. Interesantemente, en estas sesiones de 2 horas, los animales reciben los pulsos de corriente eléctrica según un protocolo preestablecido por el experimentador y, por lo tanto, de manera no contingente a su propio comportamiento (Hernández et al., 2006).

También ciertos casos clínicos revelan que algunos pacientes tratados mediante estimulación eléctrica intracerebral pueden a veces sufrir de cierta tolerancia, beneficiándose en menor grado del tratamiento prolongado (Kumar et al., 1990; Coffey, 2001; Bittar et al., 2005).

Sin embargo, la tolerancia es un fenómeno ampliamente estudiado, ya que suele acompañar habitualmente al consumo de las sustancias de abuso (por ejemplo, Ehrman, Ternex, O'Brien & McLellan, 1992; Georges, Stinus, Bloch & LeMoine, 1999; Zhao, Gao, Sun, Zhao, Gereau & Chen, 2007), y que se manifiesta particularmente tras la administración repetida de sustancias como los opiáceos, los cannabinoides, los psicoestimulantes, etc. En general, la tolerancia es definida como el descenso en la respuesta a una dosis de una sustancia administrada repetidamente o también como la necesidad de utilizar dosis progresivamente crecientes de esa sustancia a fin de reproducir el efecto recompensante inicial (Taylor & Fleming, 2001; Vetulani, 2001; Koob & LeMoal, 2006).

Esta administración repetida de las sustancias de abuso produce, por una parte, tolerancia hacia algunos de los efectos de las drogas y, por otra parte, sensibiliza algunas de sus manifestaciones (Bartoletti, Gubellini, Bachi & Babbini, 1983; Castañeda, Becker & Robinson, 1988; Horger, Shelton & Schenk, 1990; Gaiardi et al., 1991; Cunningham & Noble, 1992; Haney et al., 1999; Hart et al., 2002). Por ejemplo, en el caso de los opiáceos, la tolerancia se produce principalmente en relación a sus efectos reforzantes, analgésicos y sedativos (Célèrier et al., 2001; Winger & Woods, 2001; Simonnet & Rivat, 2003; Koob & LeMoal, 2006), mientras que la sensibilización se desarrolla hacia los efectos excitatorios que ejerce sobre la conducta locomotora y, en ciertas ocasiones, también sobre su efecto reforzante (Bartoletti et al., 1983; Gaiardi et al., 1991).

Se han propuesto dos tipos de manifestaciones propias de la tolerancia a una sustancia de abuso, unas de tipo metabólico y funcionales las otras. La tolerancia metabólica estaría relacionada con los cambios conducentes a generar un incremento en la rapidez con la que una droga es eliminada del torrente sanguíneo. La tolerancia funcional, por su parte, incluye los cambios producidos para reducir la sensibilidad de los receptores neuronales de esa droga. Así, el proceso de tolerancia y el desarrollo de los síntomas de dependencia se producen, al menos en parte, como resultado de neuro-adaptaciones compensatorias que tienen lugar tras la administración repetida de las drogas. Concretamente, el tratamiento crónico con morfina y anfetamina provoca modificaciones estructurales en la morfología de las neuronas del circuito de recompensa cerebral, como por ejemplo, en el ATV, el núcleo accumbens y el córtex prefrontal (Sklair-Tavron, Shi, Lane, Harris, Bunney & Nestler, 1996; Robinson & Kolb, 1997; Saal & Malenka, 2005). Más aún, se ha demostrado que la administración crónica de morfina provoca un descenso en el número de receptores opiáceos μ troncoencefálicos (Bernstein & Welch, 1998).

En este contexto, el objetivo de los Experimentos 7 y 8 fue comprobar si la administración repetida de estimulación eléctrica del NPBL e y de la Corteza Insular Agranular Posterior, dos áreas conectadas anatómicamente (Fulwiler & Saper, 1984; Bernard et al., 1991; Doboily et al., 2005), puede originar un descenso en su efecto reforzante analizado a través de tareas de condicionamiento de preferencia por un lugar.

EXPERIMENTO 7:
EFICACIA REFORZANTE DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA REPETIDA DEL
NÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO

MÉTODO

En este experimento, se han utilizado 53 ratas macho Wistar suministradas por el estabulario de la Universidad de Granada y cuyos pesos oscilaban entre 310 y 410 gr. al inicio del estudio. 45 de estos animales fueron intervenidos quirúrgicamente, y el resto, 8 animales, permanecieron intactos neurológicamente.

Procedimiento quirúrgico

El procedimiento quirúrgico utilizado fue similar al descrito en los capítulos anteriores. De nuevo, y tras permanecer al menos una semana en sus jaulas habituales, los animales fueron anestesiados profundamente (Thiopental Sódico, Laboratorios Abbot S.A., Madrid) y se procedió a realizar la correspondiente cirugía estereotáxica, utilizando para ello las coordenadas del atlas de Paxinos y Watson (1990): AP: -0.16; L: \pm 2.50; V: +3.00.

También como en los experimentos anteriores, el electrodo es fijado crónicamente con resina acrílica (S.R. Denture Base, Quick 3/60, Ivoclar), aplicándoseles posteriormente a los animales Povidona Yodada (Betadine, Asta Médica, Madrid), así como una inyección intramuscular de 0.1 cc. de penicilina (Penilevel, Laboratorios Level, S.A., Barcelona) para prevenir potenciales infecciones.

Procedimiento conductual

FASE 1: CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES EN DISTINTOS GRUPOS EN FUNCIÓN DEL EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NPBL_e.

El procedimiento conductual comienza con el establecimiento de la intensidad de la corriente eléctrica adecuada para cada animal, y que finalmente osciló en este grupo entre 50 y 190 μ A.

CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES DE ACUERDO CON LOS CRITERIOS ESTABLECIDOS Y LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE CONDICIONAMIENTO DE PREFERENCIA POR UN LUGAR

En esta etapa inicial, todos los animales fueron sometidos a una prueba constituida por dos sesiones de condicionamiento concurrente de preferencias por un lugar de diez minutos de duración, llevadas a cabo en días sucesivos. Esta prueba fue realizada en el laberinto 1, que sería el único utilizado a lo largo de las distintas fases experimentales.

De acuerdo con el tiempo de permanencia de los animales en la zona del laberinto asociada a la estimulación eléctrica y conforme a los criterios de distribución de los animales descritos en el Experimento 1, los 45 animales intervenidos quedaron divididos inicialmente en tres grupos: uno constituido por 28 animales que mostraban una consistente preferencia por el lugar asociado a la estimulación eléctrica del NPBL_e, y que posteriormente fue subdividido aleatoriamente en dos grupos de 14 animales, el primero de los cuales fue utilizado en el presente experimento (Grupo Positivo) y el resto en el Experimento 9. Un grupo adicional, formado por 7 animales, que no mostraban preferencia significativa por ninguna de las zonas del laberinto, también fue utilizado en este experimento (Grupo Neutro Implantado). A partir de este momento, estos últimos animales pertenecientes al Grupo Neutro Implantado pasan a ser utilizados como animales controles y no volvieron a recibir estimulación eléctrica en ninguna de las fases experimentales posteriores. Finalmente, hay que indicar que los 10 animales negativos restantes fueron excluidos de este estudio.

A continuación, los 14 animales del Grupo Positivo son divididos (de manera aleatoria) en dos grupos, que quedan así constituidos por 7 animales cada uno (**Grupo Positivo 1** y **Grupo Positivo 2**).

Asimismo, a los 7 animales del Grupo Neutro Implantado se añadieron otros 8 animales no intervenidos quirúrgicamente, que pasan a formar aleatoriamente dos grupos (**Grupo Control 1** y **Grupo Control 2**). Así, en este caso, el Grupo Control 1 estuvo compuesto por 7 animales, tres de ellos implantados y cuatro intactos. El Grupo Control 2 lo constituyen 8 animales, de los cuales cuatro son intervenidos y cuatro, intactos.

FASE 2: ESTABLECIMIENTO DE LA LÍNEA BASE.

Transcurridas 72 horas desde la fase anterior, se llevó a cabo un ensayo más de condicionamiento de preferencia por un lugar concurrente, de diez minutos de duración, para establecer la línea base.

FASE 3: ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA REPETIDA DEL NÚCLEO PBL_e

Esta fase se llevó a cabo siguiendo un procedimiento alternante constituido por cuatro sesiones en las que los animales permanecían confinados en la zona del laberinto asociada a la estimulación y otras cuatro sesiones de estimulación eléctrica concurrente en el laberinto. En otras palabras:

- 24 horas después del establecimiento de la línea base, los animales eran confinados en el compartimento del laberinto asociado a la estimulación durante una sesión de 10 minutos de duración. En cada uno de estos ensayos, sólo el Grupo Positivo 1 recibía estimulación. Los grupos Positivo 2, Control 1 y Control 2 eran situados en el compartimento correspondiente del laberinto, pero sin recibir ninguna consecuencia.
- 24 horas después de cada sesión de confinamiento, todos los animales son sometidos a una sesión de condicionamiento concurrente. En este caso, tanto el Grupo Positivo 1 como el Grupo Positivo 2 reciben estimulación eléctrica del núcleo PBL_e cuando entran

en la zona del laberinto asociada a la estimulación. Los grupos control, por su parte, no reciben estimulación en ninguno de los casos.

- Esta secuencia alternante se repite en cuatro ocasiones.

FASE 4: ANÁLISIS DEL INCREMENTO DE LA INTENSIDAD DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NPBL_e

Estudios previos realizados en nuestro laboratorio (García, 2009) han demostrado que en aquellos casos en los que la estimulación eléctrica intracerebral deja de ser eficaz, un incremento en su intensidad puede ser suficiente para recuperar su eficacia. Ahora y, transcurridas 24 horas desde la última fase, todos los animales volvieron a ser sometidos a una sesión de condicionamiento concurrente, pero en esta ocasión utilizando una intensidad incrementada en un 20%.

Por último, y de nuevo 24 horas después, se realizó una nueva sesión de condicionamiento concurrente de preferencia por un lugar en el mismo laberinto, si bien en este caso la intensidad de la corriente eléctrica se incrementó en un 40%.

Procedimiento histológico

El procedimiento histológico utilizado es similar al descrito en capítulos anteriores. Así, una vez finalizada la fase conductual, todos los animales implantados recibieron una inyección de 0.25 mg. de pentotal sódico (Thiopental Sódico, Laboratorios Abbot S.A., Madrid). A continuación, para determinar la zona de la estimulación se generó una pequeña lesión electrolítica (0.3 mA de corriente catódica continua durante 5 segundos). Posteriormente, se efectuó una perfusión transcardíaca inyectando varias soluciones de suero fisiológico y formaldehído al 10%. Los cerebros fueron extraídos del cráneo y conservados en una solución de formaldehído al 10% durante varios días. Posteriormente y con la ayuda de un vibrotomo, se laminaron secciones de aproximadamente 80 micras de grosor, para ser posteriormente montadas en portaobjetos, teñidas con Violeta de Cresilo y, por último, fotografiadas.

RESULTADOS

FASE 1: CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES EN DISTINTOS GRUPOS EN FUNCIÓN DEL EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DEL NPBL_e.

Siguiendo el criterio conductual previamente establecido en el capítulo 1 para la distribución de animales según su comportamiento en el laberinto rectangular, se formaron inicialmente dos grupos implantados, uno "positivo" constituido por 14 animales cuyo tiempo medio de permanencia en la zona del laberinto asociada a la estimulación durante el segundo ensayo de esta fase fue de 464,57 s. y un grupo neutro formado por 7 animales cuya estancia media en la zona asociada a estimulación fue de 264,71 s. Por último, el tiempo de permanencia media en la zona del laberinto asociada a la estimulación en el grupo de animales intactos fue de 252,38 s.

FASES 2 Y 3: COMPARACIÓN ENTRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA LÍNEA BASE Y EN EL ÚLTIMO ENSAYO DE CONDICIONAMIENTO CONCURRENTES

Una vez distribuidos los animales en los cuatro grupos descritos anteriormente, se analizaron los resultados obtenidos en las sesiones de condicionamiento de preferencias por un lugar concurrente. Para ello, se utilizaron análisis de varianza univariados intragrupo.

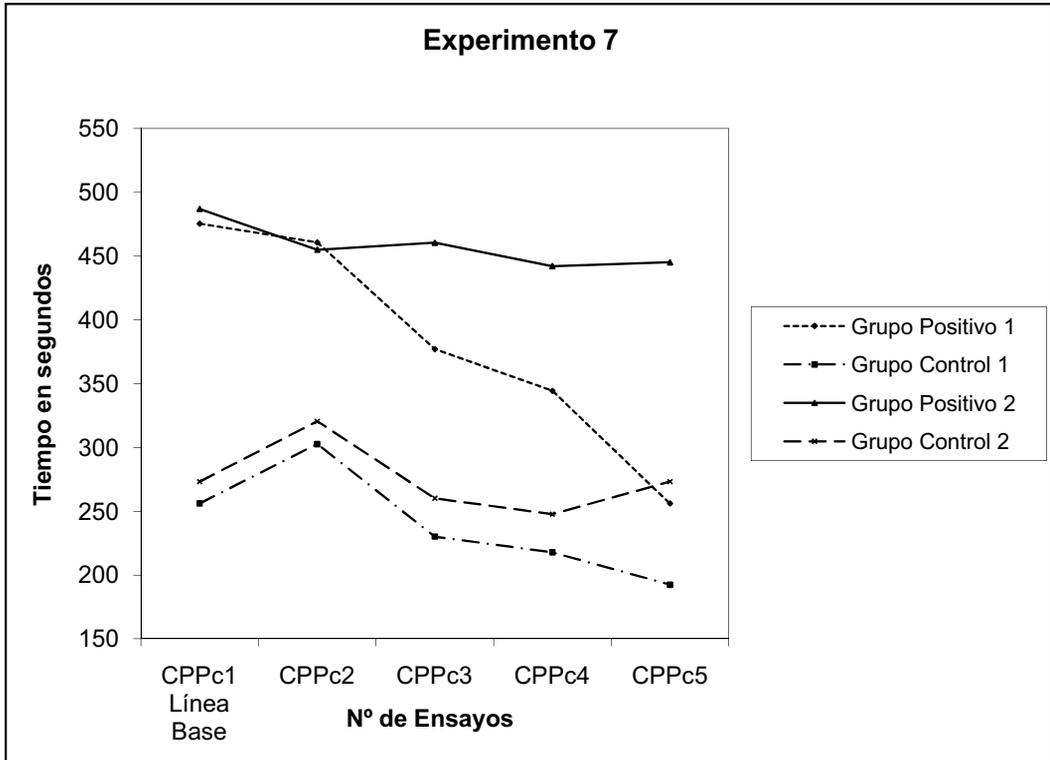


Figura 31. Representación gráfica del tiempo de permanencia mostrado por los distintos grupos de animales, en la zona del laberinto asociada a la estimulación eléctrica del NPBL, durante las distintas sesiones de condicionamiento concurrente de preferencias por un lugar (CPPc).

Los resultados obtenidos en el Grupo Positivo 1 muestran que existe un efecto significativo del factor día de Condicionamiento Concurrente ($F_{(4,24)} = 3.9845$, $p < 0.0128$). De esta manera, y como puede apreciarse en la figura 31, a medida que aumenta el número de ensayos de adquisición, disminuye el tiempo de permanencia de los animales en el compartimento del laberinto asociado a la estimulación eléctrica del NPBL. Posteriormente, las comparaciones planeadas revelaron diferencias significativas entre el ensayo de línea base y el quinto ensayo ($F_{(1,6)} = 13.8660$, $P < 0.0098$), (ver figura 32).

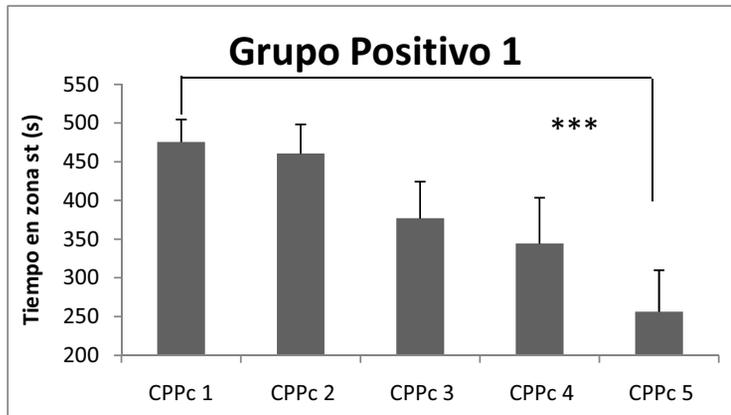


Figura 32. Representación gráfica del tiempo de permanencia (expresado en segundos) mostrado por los animales pertenecientes al Grupo Positivo 1, en la zona del laberinto asociada a estimulación eléctrica del NPBL. Los asteriscos indican las diferencias significativas con una $p < 0,01$, en este caso reveladas entre la sesión de CPPc de línea base y la última sesión de CPPc.

Por su parte, los resultados obtenidos por el Grupo Positivo 2 (ver Figura 33) muestran que no hay un efecto principal del factor día de Condicionamiento Concurrente ($F_{(4,24)} = 0.6379$, $p < 0.6379$).

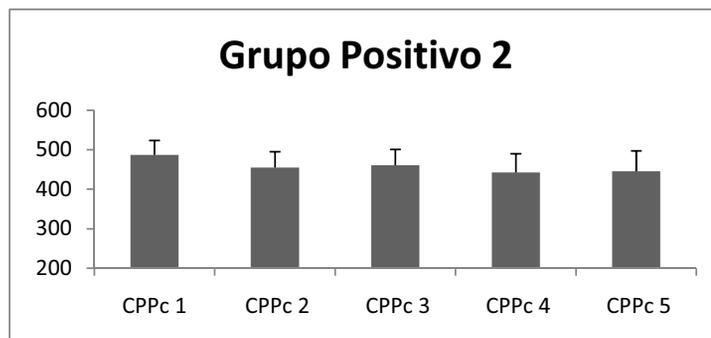
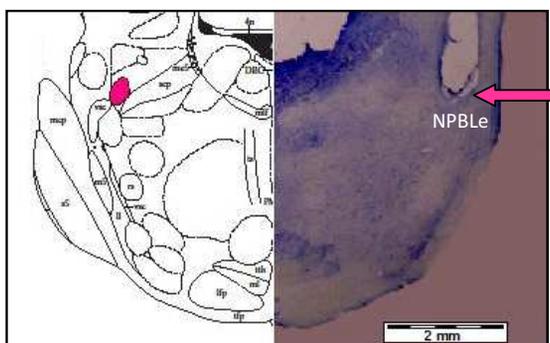


Figura 33. Representación gráfica del tiempo de permanencia (expresado en segundos) mostrado por los animales pertenecientes al Grupo Positivo 2, en la zona del laberinto asociada a estimulación eléctrica del NPBL.

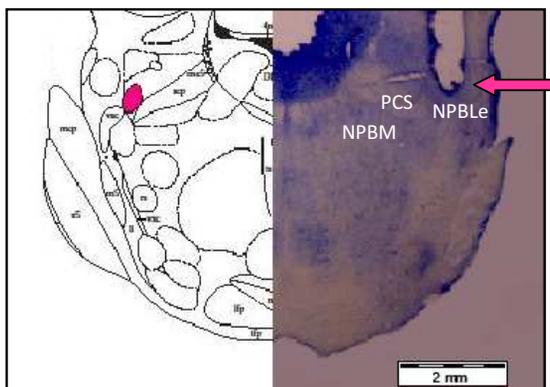
Resultados similares se han obtenido en los grupos controles, en los que no se producen diferencias entre las sesiones de condicionamiento concurrente en el Grupo Control 1 ($F_{(4,28)} = 0.9287$, $p < 0.4615$) ni en el Grupo Control 2 ($F_{(4,24)} = 1.1743$, $p < 0.9494$).

Por otra parte, el análisis estadístico resultante de la comparación entre el tiempo que los animales permanecen en el compartimento asociado a la estimulación durante el quinto ensayo de CPPc, y durante la cuarta fase, en la cual la estimulación es incrementada en un 20%, indica que no existen diferencias significativas en el Grupo Positivo 1 ($F_{(1,6)}= 1.5951$, $p < 0.2535$) ni en el Grupo Positivo 2 ($F_{(1,6)}= 0.0035$, $p < 0.9546$). Tampoco aparecen diferencias significativas en el Grupo Control 1 ($F_{(1,7)}= 0.9088$, $p < 0.3722$) ni en el Grupo Control 2 ($F_{(1,6)}= 0.1128$; $p < 0.7484$). Lo mismo sucede tras incrementar la estimulación eléctrica aplicada al NPBL e en un 40% (resultados no incluidos).

Por su parte, el análisis histológico de los cerebros de los animales intervenidos muestra la localización del electrodo en el subnúcleo parabraquial lateral externo, tal y como puede observarse en las microfotografías 8 y 9:



Microfotografía 8. Localización del electrodo en un sujeto perteneciente al Grupo Positivo 1.



Microfotografía 9. Localización del electrodo en un sujeto perteneciente al Grupo Positivo 2. Abreviaturas: NPBL m: Núcleo parabraquial medial; NPBL e: Núcleo parabraquial lateral externo; PCS: Pedúnculo Cerebeloso Superior.

**EXPERIMENTO 8:
EFICACIA REFORZANTE DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA
REPETIDA DE LA CORTEZA INSULAR**

MÉTODO

En el experimento 8 se utilizaron 40 ratas macho Wistar suministradas por el servicio de animalario de la Universidad de Granada y cuyos pesos oscilaron entre 270-330 gr. al inicio del estudio.

A su llegada al laboratorio, los animales fueron distribuidos de forma aleatoria, en dos grupos independientes, un grupo de 31 animales que habrían de ser implantados crónicamente con un electrodo intracerebral y otro grupo de 9 animales que permanecerían intactos, esto es, sin intervención quirúrgica.

Procedimiento quirúrgico

Similar al descrito en capítulos anteriores, si bien ahora las coordenadas estereotáxicas utilizadas para implantar crónicamente el electrodo en el córtex insular fueron: AP: -8.16; L: \pm 5.90; V: +2.40, tomadas del Paxinos y Watson (1990).

Procedimiento conductual

FASE 1: CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES EN DISTINTOS GRUPOS EN FUNCIÓN DEL EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN LA CORTEZA INSULAR AGRANULAR POSTERIOR.

Al igual que en el experimento anterior, inicialmente se procedió a establecer la intensidad de la estimulación eléctrica adecuada para cada animal, y que en este grupo osciló entre 70 y 385 μ A.

De acuerdo con los estudios previos realizados en nuestro laboratorio, frecuentemente los parámetros de estimulación que se obtienen de estas pruebas suelen resultar excesivamente

elevados para los animales implantados en la corteza insular (García, 2009), por lo que durante este estudio se redujo a sólo el 85% de la estimulación prevista.

CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES DE ACUERDO CON LOS CRITERIOS ESTABLECIDOS Y LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE CONDICIONAMIENTO DE PREFERENCIA

Durante esta fase, todos los animales fueron sometidos a una prueba de condicionamiento concurrente por un lugar durante dos sesiones de 10 minutos de duración cada una, y realizadas en días sucesivos. Esta prueba se llevó a cabo en el laberinto 1, que será el utilizado en el resto de las fases del experimento. Con los 9 animales intactos se siguió el mismo protocolo, aunque sin recibir estimulación eléctrica intracerebral.

Como en casos anteriores, la variable determinante fue el tiempo de permanencia de los animales en el compartimento del laberinto asociado a la estimulación eléctrica (criterio de distribución de los animales, descrito en el Capítulo 1). De acuerdo con los resultados obtenidos, el grupo implantado quedó dividido en dos grupos: uno, formado por 16 animales que mostraban una preferencia consistente por el lugar asociado a la estimulación eléctrica de la Corteza Insular Agranular (**Grupo Positivo**); y otro grupo, que incluía 12 ratas que mostraban indiferencia por cualquiera de las áreas del laberinto (**Grupo Neutro Implantado**). A partir de este momento, estos últimos animales pasaron a formar el del grupo neutro implantado, y fueron utilizados como animales controles que no vuelven a recibir estimulación eléctrica en ninguna de las fases experimentales posteriores. Los animales que no cumplían estos criterios fueron excluidos del experimento.

Antes de iniciar la segunda fase experimental, los 16 animales que mostraron preferencia por el lugar asociado a la estimulación fueron asignados aleatoriamente a dos grupos, constituidos cada uno por 8 animales (**Grupo Positivo 1** y **Grupo Positivo 2**).

Asimismo, tanto los animales controles intactos como los neutros implantados fueron asignados de manera aleatoria a dos grupos: el **Grupo Control 1**, formado por 4 animales intactos y 6 implantados; y el **Grupo Control 2**, constituido por 5 animales intactos y 6 implantados.

FASE 2: ESTABLECIMIENTO DE LA LÍNEA BASE.

Transcurridas 72 horas, se llevó a cabo un nuevo ensayo más de condicionamiento de preferencias por un lugar concurrente de diez minutos de duración para establecer la línea base, en el mismo laberinto 1.

FASE 3: ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA REPETIDA DE LA CORTEZA INSULAR

Durante esta fase se utilizó un procedimiento de estimulación alternante, de manera que durante 3 sesiones los animales recibían estimulación mientras permanecieron confinados en la zona del laberinto asociada a la estimulación, todo ello alternado con otras 3 sesiones de condicionamiento concurrente en el mismo laberinto. Esto es:

- 24 horas después del establecimiento de la línea base, los animales son confinados en el compartimento del laberinto asociado a la estimulación durante una sesión de 10 minutos de duración. En este tipo de ensayos, sólo el Grupo Positivo 1 recibe estimulación. Los demás grupos también son confinados en el compartimento correspondiente, aunque sin recibir estimulación eléctrica intracerebral.
- 24 horas después de la sesión de confinamiento, todos los animales son sometidos a una sesión de condicionamiento concurrente (CPPc). En este caso, tanto el Grupo Positivo 1 como el Grupo Positivo 2 reciben estimulación eléctrica de la Corteza Insular cuando entran en la zona del laberinto asociada a la estimulación. Los grupos control no reciben estimulación en ningún caso.
- Esta secuencia alternante se repite en 3 ocasiones.

FASE 4: RECUPERACIÓN DEL EFECTO DE PREFERENCIA POR UN LUGAR MEDIANTE EL INCREMENTO DE LA INTENSIDAD DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DE LA CORTEZA INSULAR AGRANULAR.

Estudios previos realizados en nuestro laboratorio (García, 2009) indican que en los casos en los que la estimulación deja de resultar recompensante, un incremento del 20 por ciento en la intensidad de la corriente permite lograr recuperar su eficacia recompensante.

Así, 24 horas después de finalizar la fase 3, los animales fueron sometidos a una prueba de condicionamiento de preferencias por un lugar concurrente en el mismo laberinto, si bien en este caso la corriente aplicada a los animales de los Grupos Positivo 1 y Positivo 2 fue la misma que la utilizada durante las pruebas de establecimiento de la corriente adecuada, lo que supone un incremento de la corriente del 20% con respecto a las fases 2 y 3.

Procedimiento histológico

También en este caso se realizó un procedimiento histológico en todos los animales implantados similar al descrito en capítulos anteriores.

RESULTADOS

FASE 1: CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES EN DISTINTOS GRUPOS EN FUNCIÓN DEL EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DE LA CORTEZA INSULAR AGRANULAR POSTERIOR.

Siguiendo el criterio conductual de distribución de animales propuesto en el primer capítulo de esta Tesis y de acuerdo con los resultados obtenidos en la fase 1, se formaron dos grupos implantados: uno "positivo", constituido por 16 animales cuyo tiempo medio de permanencia en la zona del laberinto asociada a la estimulación fue de 419,53 s. y un grupo neutral formado por 12 animales cuya estancia media en la zona asociada a estimulación fue de 239,5 s. Por último, el tiempo de permanencia media en la zona del laberinto asociada a la estimulación en el grupo de animales intactos fue de 239 s.

FASES 2 Y 3: COMPARACIÓN ENTRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA LÍNEA BASE Y EN EL ÚLTIMO ENSAYO DE CONDICIONAMIENTO CONCURRENTES

Una vez constituidos los cuatro grupos descritos anteriormente, se analizaron los resultados obtenidos en las sesiones de condicionamiento concurrente de preferencias por un lugar.

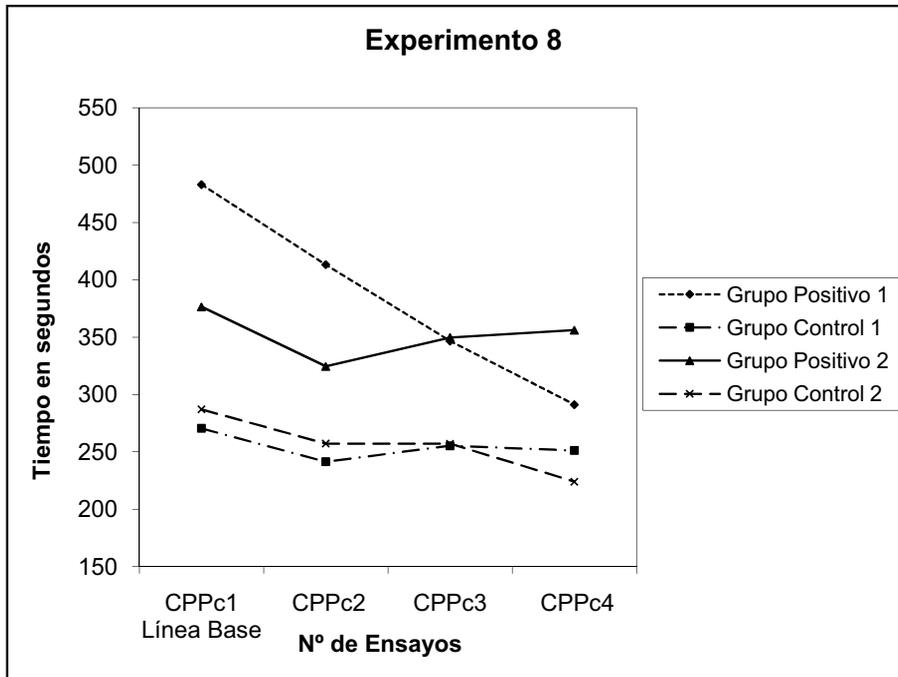


Figura 34. Representación gráfica del tiempo de permanencia mostrado por los distintos grupos de animales, en la zona del laberinto asociada a la estimulación eléctrica de la CI Agranular, durante el condicionamiento concurrente de preferencias por un lugar (CPPc).

Para analizar estadísticamente los datos obtenidos durante las 4 sesiones de CPPc (Fases 2 y 3) en cada uno de los grupos, se utilizó un análisis de varianza univariado intragrupo. Los resultados obtenidos en el Grupo Positivo 1 muestran que existe un efecto significativo del factor día de CPPc ($F_{(3,21)} = 5.42$, $p < 0.0064$), (figura 34), de modo que conforme aumenta el número de ensayos de adquisición, disminuye el tiempo de permanencia de los animales en la zona del laberinto asociada a la estimulación eléctrica de la Corteza Insular Agranular. El posterior análisis de comparaciones planeadas entre el CPPc de línea base y el CPPc 4, revela una diferencia significativa en el Grupo Positivo 1 ($F_{(1,7)} = 7.63$; $p < 0.0280$) (ver Figura 35).

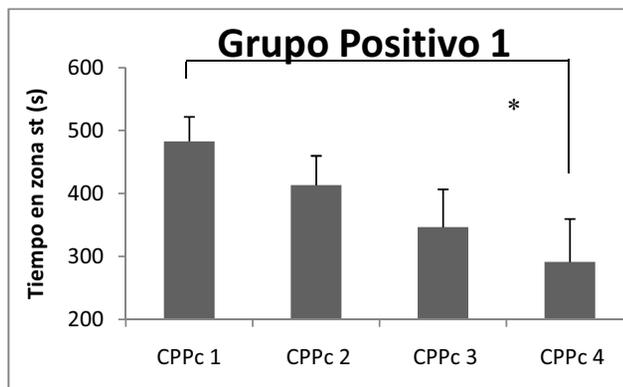


Figura 35. Representación gráfica del tiempo de permanencia (expresado en segundos) mostrado por los animales pertenecientes al Grupo Positivo 1, en la zona del laberinto asociada a estimulación eléctrica del CI Agranular. Se obtienen diferencias significativas entre la sesión de CPPc de línea base y la última sesión de CPPc (* $p < 0,05$).

Los resultados obtenidos en el Grupo Positivo 2 muestran, por su parte, que no se produce efecto principal del factor día de CPPc ($F_{(3,21)} = 0.2259$, $p < 0.87$) (ver figura 36).

Resultados similares se han obtenido en los grupos controles, en los que no hay diferencias significativas entre los ensayos de CPPc en el Grupo Control 1 ($F_{(3,27)} = 0.0936$, $p < 0.962$) ni en el Grupo Control 2 ($F_{(3,30)} = 0.4225$, $p < 0.738$).

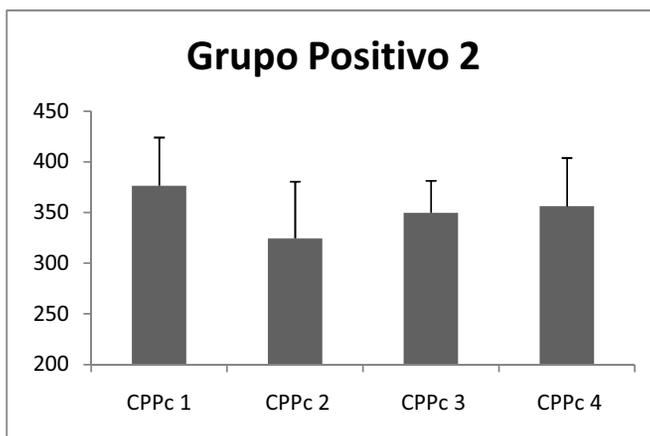


Figura 36. Representación gráfica del tiempo de permanencia (expresado en segundos) mostrado por los animales pertenecientes al Grupo Positivo 2, en la zona del laberinto asociada a estimulación eléctrica del CI Agranular.

FASE 4: RECUPERACIÓN DEL EFECTO DE PREFERENCIA POR UN LUGAR INDUCIDA MEDIANTE EL INCREMENTO DE LA INTENSIDAD DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA DE LA CORTEZA INSULAR AGRANULAR.

Por otra parte, en la Figura 37 se representan los resultados obtenidos por los distintos grupos en el cuarto ensayo de CPPc y la prueba de recuperación (Fase 4).

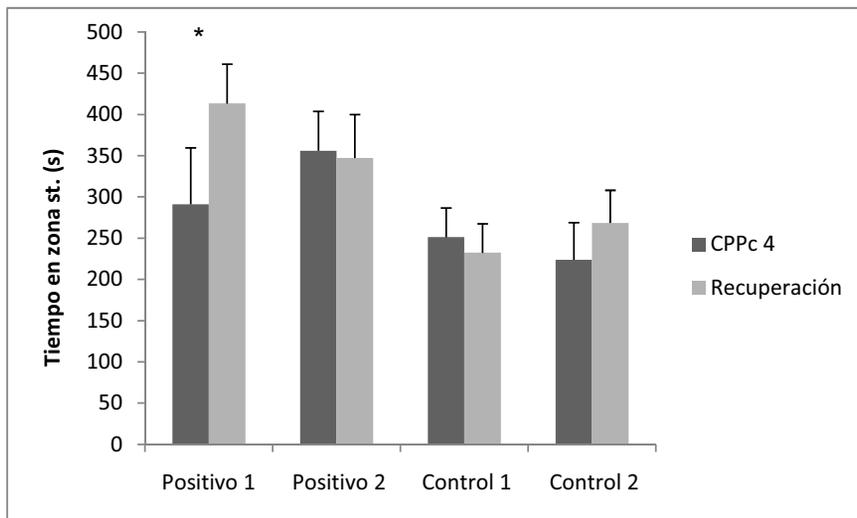
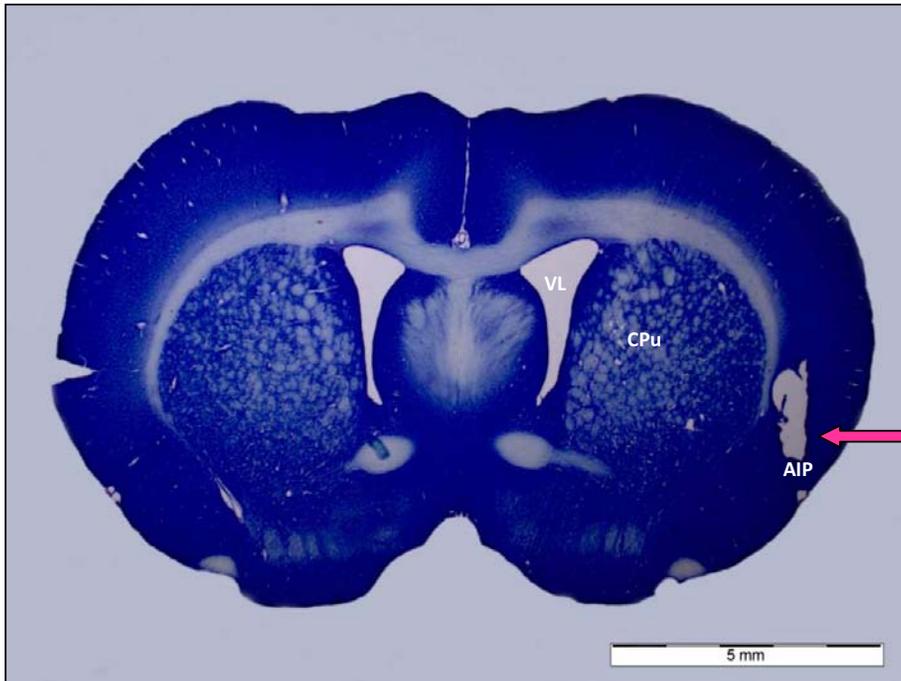


Figura 37. Representación gráfica del tiempo de permanencia (expresado en segundos) mostrados por los distintos grupos de animales, en la zona del laberinto asociada a la estimulación eléctrica del CI Agranular, durante el ensayo de condicionamiento concurrente de preferencias por un lugar (CPPc 4) y en la prueba de recuperación. El asterisco muestra una diferencia significativa con una $p < 0.05$.

Para analizar estos datos, se realizó un análisis de varianza intragrupo, que reveló diferencias significativas entre el ensayo CPPc 4 y el ensayo de Recuperación en el Grupo Positivo 1 ($F_{(1,7)} = 11.444$, $p < 0.012$). Sin embargo, este análisis muestra una ausencia de diferencias significativas en el caso del Grupo Positivo 2 ($F_{(1,7)} = 0.09$, $p < 0.7782$). Tampoco se obtienen diferencias significativas en el Grupo Control 1 ($F_{(1,9)} = 0.13$, $p < 0.7294$) ni en el Grupo Control 2 ($F_{(1,10)} = 0.45$, $p < 0.5176$).

En la Microfotografía 10 se puede comprobar la localización del electrodo implantado en la Corteza Insular Agranular Posterior de uno de los animales pertenecientes al Grupo Positivo 2:



Microfotografía 10. Localización del electrodo en un sujeto perteneciente al Grupo Positivo 2. Abreviaturas: AIP: Corteza Insular Agranular Posterior; CPu: Caudado Putamen; VL: Ventrículo lateral.

DISCUSIÓN

Los resultados del Experimento 7 demuestran, una vez más, que la estimulación eléctrica del NPBL induce preferencias por el lugar con el que esta activación cerebral es asociada. En este experimento se comprueba también que dicho efecto reforzante puede verse disminuido cuando la estimulación se aplica de manera repetida. En efecto, cuando la estimulación eléctrica del NPBL se administra diariamente (Grupo Positivo 1), el efecto reforzante se reduce. Este hecho se manifiesta comportamentalmente a través de un descenso en el tiempo de permanencia de los animales en la zona del laberinto asociada a la estimulación. Sin embargo, cuando la estimulación eléctrica sólo se aplica concurrentemente en días alternos (Grupo Positivo 2), el efecto reforzante de la misma se mantiene, y los animales siguen manifestando una consistente preferencia por el lugar asociado a la estimulación.

Resultados similares se han obtenido cuando el área estimulada es la Corteza Insular Agranular Posterior (Experimento 8). También en este caso, la estimulación eléctrica induce preferencias por el lugar con el que es asociada. Igualmente, los resultados del Experimento 8 demuestran que este efecto puede verse progresivamente reducido cuando la estimulación

eléctrica es aplicada de manera repetida. Así, la activación diaria de la CI Agranular (Grupo Positivo 1) provoca una reducción en el tiempo de permanencia de los animales en el compartimento asociado a la estimulación, mientras que su activación en días alternos no provoca una reducción del efecto reforzante (Grupo Positivo 2).

Esta reducción del efecto de la estimulación en los Grupos Positivos 1 no parece deberse a anomalías de la propia estimulación (esto es, por una modificación, por ejemplo, en la posición del electrodo) o a lesiones en el tejido cerebral, ya que dicha reducción no se observa en el Grupo Positivo 2 en ninguno de los dos experimentos. Es más, el hecho de que en el Experimento 8 (Corteza Insular), un incremento en la intensidad de la corriente eléctrica administrada vuelva a inducir preferencia por el lugar asociado a la estimulación eléctrica de la CI, descarta todas estas posibilidades.

La reducción del efecto reforzante de la estimulación eléctrica, tanto del NPBL e como de la CI, es un hecho singular que contrasta con los resultados obtenidos históricamente tras administrar periodos prolongados de AEIC. En efecto, una de las características más llamativas de la AEIC es el elevado índice de respuestas instrumentales que suelen emitir los animales durante largos periodos de tiempo, sin que se produzca habituación o una reducción en su capacidad reforzantes (Olds, 1958). A este hecho diferencial, hay que añadir otro más y es la imposibilidad de inducir conductas de AEIC mediante la estimulación eléctrica del NPBL e y de la CI (Cubero & Puerto, 2000; García, 2009; Simón et al., 2009), todo lo cual sugiere que el efecto reforzante obtenido mediante la estimulación eléctrica de estas áreas cerebrales podría ser diferente del fenómeno de la AEIC.

De hecho, los resultados de los Experimentos 7 y 8 sugieren más bien que la estimulación repetida del NPBL e y de la CI podría coincidir o ser similar al fenómeno de tolerancia que habitualmente se observa tras la administración reiterada de algunas sustancias de abuso (Ehrman et al., 1992; Duttaroy & Yoburn, 1995; Georges et al., 1999; Eitan et al., 2003; Gerrits et al., 2003; Koob & LeMoal, 2006; Zhao et al., 2007). En el Experimento 8, por ejemplo, se observa que, como ocurre en el caso de estas sustancias adictivas, una vez desarrollado este proceso, un incremento en la intensidad de la activación (o dosis) permite recuperar el efecto reforzante inicial.

El estudio de los procesos implicados en la tolerancia característica de las drogas de abuso es una cuestión clave y muy discutida. La adaptación homeostática a la variabilidad es una característica fundamental de los organismos y, así, la tolerancia desarrollada a ciertos

efectos de las drogas de abuso ha sido considerada como un caso especial de adaptación fisiológica, neuroadaptaciones compensatorias que se producen durante la administración repetida y continua de las drogas de abuso (Poulos et al., 1981; Poulos & Cappell, 1991; Koob et al., 1993; Bernstein & Welch, 1998; Everitt et al., 2001; Shippenberg et al., 2001; Koob & LeMoal, 2006). Por ejemplo, se ha demostrado que la administración crónica de morfina provoca un descenso en el número de receptores opiáceos μ tronco-encefálicos, descenso que no ocurre cuando la administración es aguda (Bernstein & Welch, 1998). Igualmente se ha comprobado que, en las personas con dependencia a los opiáceos, se produce un descenso en la densidad de la materia gris del Córtex Prefrontal, Temporal e Insular (Lyyo et al., 2006).

Existe el convencimiento general de que el desarrollo del proceso de tolerancia es dependiente de múltiples factores y, entre ellos, del aprendizaje que haya tenido lugar en las experiencias particulares de cada individuo. En este sentido, Siegel y asociados han propuesto que las respuestas compensatorias (opuestas a la acción de las drogas) que subyacen a la tolerancia opiácea, se adquieren y extinguen según los principios del condicionamiento clásico (Siegel, 1999; Siegel, Baptista, Kim, McDonald & Weise-Kelly, 2000; Siegel & Ramos, 2002). De acuerdo con esta propuesta, tanto la tolerancia como la abstinencia serían moduladas por índices del entorno asociados al consumo de estas sustancias. En otras palabras, cuando una droga de abuso se administra en el contexto de unas claves a las que su consumo está asociado, su efecto se ve atenuado por las respuestas condicionadas compensatorias que aparecen antes de que la droga surta su efecto. Por lo tanto, y conforme a este modelo, los índices contextuales se convierten en estímulos condicionados que permiten al organismo preadaptarse y contrarrestar los efectos de la intoxicación, tanto los deseados como los no deseados. Además, también se ha puesto de manifiesto la relevancia de claves tanto externas o contextuales como internas o privadas, que podrían asociarse a la acción de las drogas dificultando, aún más, el análisis del fenómeno de la tolerancia (Siegel et al., 2000).

En este sentido, se comprueba que, en los dos experimentos incluidos en este capítulo, los animales pertenecientes al Grupo Positivo 1 reciben el doble de ensayos de condicionamiento (asociación entre las claves del compartimento del laberinto asociado a la estimulación y el efecto recompensante de la misma) que los del Grupo Positivo 2, lo cual sugiere que en el primer grupo el aprendizaje haya podido ser más robusto y, como consecuencia de este condicionamiento, la mera presencia de los índices contextuales del compartimento correspondiente pondrían en marcha las respuestas compensatorias, que contrarrestarían el efecto recompensante de la estimulación eléctrica intracerebral. Siguiendo a Siegel y asociados, el resultado de este proceso sería justamente una reducción en el efecto

recompensante de la estimulación eléctrica intracerebral en los Grupos Positivos 1, reducción que finalmente observamos en estos animales y que define el proceso de tolerancia.

Más aún, diversas investigaciones llevadas a cabo tanto en animales como en seres humanos, han demostrado que el desarrollo de la tolerancia estaría íntimamente relacionado con la dosis de la sustancia administrada y con el patrón seguido en su administración (Kreek & Koob, 1998; Robinson & Kolb, 2004; Koob & LeMoal, 2006). Por ejemplo, en el caso de la administración de sustancias de abuso opiáceas que sigue un patrón continuo, se favorece el desarrollo de la tolerancia en manifestaciones tales como la analgesia y el refuerzo, mientras que la administración discontinua o intermitente, suele estar relacionada, en mayor medida, con el desarrollo de sensibilización (Kuribara, 1996; Vanderschuren et al., 1997; Kreek & Koob, 1998; Ventulani, 2001; Eitan et al., 2003; Viganò et al., 2003; Hyman et al., 2006; Koob & LeMoal, 2006).

También en este caso, observamos un cierto paralelismo entre el comportamiento de los animales en respuesta a las drogas de abuso y en respuesta a la estimulación eléctrica intracerebral aplicada en este estudio. Así, la administración de la corriente eléctrica siguiendo un patrón continuo ha provocado que en los animales de los Grupos Positivos 1 se produzca una reducción de su efecto recompensante, mientras que un patrón intermitente de administración (Grupos Positivos 2) no produce ningún efecto reseñable, ya que estos animales siguen mostrando la habitual preferencia por el lugar del laberinto asociado a la estimulación eléctrica.

Aunque la mayoría de los estudios sobre tolerancia se han centrado en el contexto de las sustancias de abuso, existen algunas observaciones que sugieren que este fenómeno puede no ser exclusivo de la drogadicción. Así, se ha detectado una reducción progresiva en la respuesta de orientación inducida tras la estimulación eléctrica de ciertas áreas cerebrales (córtex y amígdala), sobre todo en relación con la vía auditiva y cuando la activación se produce de manera repetida (Ursin, Wester & Ursin, 1967; Robertson, 1979; 1981). Asimismo, algunos estudios clínicos muestran resultados similares (pérdida progresiva de eficacia) en pacientes sometidos durante largos periodos de tiempo a estimulación eléctrica intracerebral para tratar distintos problemas relacionados con la salud (Kumar et al., 1990; Coffey, 2001; Bittar et al., 2005).

CAPÍTULO V:

CONSISTENCIA REFORZANTE DE LAS DISTINTAS
MODALIDADES DE ADMINISTRACIÓN DE ESTIMULACIÓN
ELÉCTRICA EN EL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL
LATERAL EXTERNO.

CAPÍTULO V:

CONSISTENCIA REFORZANTE DE LAS DISTINTAS MODALIDADES DE ADMINISTRACIÓN DE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA EN EL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO

La estimulación eléctrica del NPBL_e puede inducir preferencias por el lugar con la que es asociada (Experimentos 4, 5, 6 y 7 de esta Tesis Doctoral). Sin embargo, en el capítulo anterior se observa que dicho efecto reforzante puede verse disminuido en el caso de que el procedimiento de administración de la estimulación se lleve a cabo de manera repetida. Así, cuando la estimulación eléctrica del NPBL_e se administra diariamente, su efecto reforzante se reduce, lo que se pone de manifiesto por un descenso en el tiempo de permanencia de los animales en la zona del laberinto asociada a la estimulación. Por el contrario, cuando la estimulación eléctrica se aplica según el modelo concurrente y en días alternos, el efecto reforzante se mantiene y los animales siguen manifestando una consistente preferencia por el lugar asociado a la estimulación.

Hay que destacar, sin embargo, que en el grupo positivo 1 de los experimento 7 y 8 de esta Tesis Doctoral, la estimulación eléctrica es administrada a los animales de manera independiente a su comportamiento y con los roedores confinados en una zona del laberinto. Por su parte, en los restantes días alternos, con ensayos de condicionamiento por un lugar de tipo concurrente, los grupos positivo 1 y positivo 2 reciben la estimulación eléctrica en función de su estancia voluntaria en el compartimento del laberinto asociado a la estimulación. Es decir, que mientras los grupos positivo 2 solamente reciben estimulación eléctrica dependiendo de su conducta; los grupos positivo 1 reciben, en días alternos, la estimulación eléctrica intracerebral correspondiente a las dos modalidades de ensayos, concurrentes y secuenciales. En resumen, en estos grupos de animales la aplicación o no de la estimulación no siempre depende de su comportamiento.

En este sentido, existen en la bibliografía diversos ejemplos sobre el efecto diferencial que pueden ejercer los distintos tratamientos o estímulos, según la modalidad en la que son administrados. Así, en el estudio de las consecuencias del estrés sobre el organismo se puede concluir, por ejemplo, que el estrés impredecible e incontrolable tiene efectos más graves sobre la salud y el sistema inmune que cuando puede ser predicho y/o controlado (Berger et al., 1980; Drugan et al., 1997; Dave et al., 2000; Holmer et al., 2003).

Igualmente, se ha comprobado que la estimulación eléctrica intracerebral muestra efectos neuroadaptativos diferenciales dependiendo de si es autoadministrada por el propio animal o si es administrada por el experimentador (Garris et al., 1999; Kilpatrick et al., 2000). Los resultados de estos estudios revelan una liberación de dopamina diferencial en función del tipo de administración (Garris et al., 1999; Kilpatrick et al., 2000). Así, cuando la estimulación es autoadministrada sólo se observa liberación de dopamina en la vía mesolímbica en el primer ensayo para, a continuación, disminuir progresivamente en los siguientes ensayos. Esto es, la activación de las neuronas dopaminérgicas mesolímbicas parece ser una condición necesaria inicial para adquirir la conducta de AEIC, aunque su liberación disminuye progresivamente durante el desarrollo del aprendizaje (Garris et al., 1999; Kilpatrick et al., 2000). Sin embargo, cuáles pueden ser las consecuencias comportamentales diferenciales producidas por estas modalidades de administración está por determinar.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, y de acuerdo con los resultados obtenidos en el capítulo previo, se podría plantear si la disminución del efecto reforzante tras la estimulación eléctrica intracerebral repetida puede ser debida a factores tales como la cantidad de estimulación administrada, o alternativamente al hecho de que los animales de los grupos positivo 1 de ambos experimentos han recibido la estimulación de manera independiente a su propia conducta.

Así pues, y en este contexto, el objetivo de este último experimento ha sido disociar entre las posibles causas de la reducción en el refuerzo demostrado en el capítulo anterior y, al mismo tiempo, investigar los efectos de la modalidad de administración sobre las propiedades reforzantes de la estimulación eléctrica intracerebral aplicada al NPBL.

EXPERIMENTO 9:
CONSISTENCIA REFORZANTE DE LAS DISTINTAS
MODALIDADES DE ADMINISTRACIÓN DE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA
EN EL SUBNÚCLEO PARABRAQUIAL LATERAL EXTERNO

MÉTODO

Para realizar el presente experimento se utilizaron 29 macho Wistar suministradas por el servicio de animalario de la Universidad de Granada, y cuyo peso oscilaba entre 310 y 410 gr. al inicio del estudio.

Procedimiento quirúrgico

El procedimiento quirúrgico que se llevó a cabo fue similar al descrito en capítulos anteriores. Asimismo, también se utilizaron las mismas coordenadas estereotáxicas del NPBL que en experimentos anteriores, AP: -0.16; L: \pm 2.50; V: +3.00 (Paxinos & Watson, 1990).

Procedimiento conductual

FASE 1: CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES EN DISTINTOS GRUPOS SEGÚN LOS EFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA.

A) PARÁMETROS DE ESTIMULACIÓN

Al igual que en los experimentos anteriores, esta fase se inicia con el establecimiento de los parámetros de la estimulación eléctrica adecuados para cada animal, de manera que su administración en ningún caso pudiera generar vocalizaciones o movimientos involuntarios (Tehovnik, 1996). Así, la corriente eléctrica establecida finalmente estuvo comprendida entre 70 y 320 μ A.

B) CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES A TRAVÉS DE UNA PRUEBA DE CONDICIONAMIENTO CONCURRENTES DE PREFERENCIAS POR UN LUGAR.

Los animales intervenidos quirúrgicamente fueron examinados a través de dos ensayos (de diez minutos de duración) de condicionamiento concurrente de preferencias por un lugar. Esta prueba fue realizada en el Laberinto 1, que va a ser el laberinto utilizado en el resto de fases experimentales.

De acuerdo con el tiempo de permanencia de los animales en la zona del laberinto asociada a la estimulación eléctrica y aplicando los criterios de distribución de los animales descritos en el primer capítulo de esta Tesis Doctoral (tablas 1 y 2, página 98), 14 animales fueron asignados al Grupo Positivo, por mostrar una consistente preferencia por el lugar asociado a la estimulación eléctrica del NPBL. Igualmente se incluyó un grupo control, constituido por 15 animales que no habían sido intervenidos quirúrgicamente y que, por lo tanto, no recibieron estimulación eléctrica intracerebral en ningún momento (Grupo Intacto).

A su vez, el grupo positivo fue dividido aleatoriamente en dos subgrupos, emparejando los animales de dos en dos. Las parejas de animales de los dos grupos estimulados se hicieron siguiendo el procedimiento de Grupos Pareados (*Yoked Groups*). Es decir, se ordenaron los animales por "positividad" (esto es, por el tiempo de permanencia en el compartimento asociado a la estimulación eléctrica durante el segundo ensayo de la prueba previa de clasificación), y se fueron agrupando dos a dos, siguiendo este orden. Posteriormente, cada miembro de la pareja se asignó a un grupo u otro aleatoriamente. De esta manera, los animales quedan distribuidos en dos grupos, de 7 animales cada uno, a los que llamaremos "Grupo Positivo Contingente" y "Grupo Positivo No-contingente".

Asimismo, los animales del grupo intacto fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos: el Grupo Control Contingente, que quedó constituido por 8 animales y el Grupo Control No-contingente, formado por 7 animales.

FASE 2: ESTABLECIMIENTO DE LA LÍNEA BASE.

Transcurridas 2 semanas desde la fase anterior, todos los animales fueron sometidos a un ensayo más de condicionamiento de preferencia por un lugar de tipo concurrente, de quince minutos de duración, para establecer la línea base.

FASE 3: ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA CONTINGENTE / NO-CONTINGENTE DEL NPBL

Durante las tres sesiones de esta fase, los grupos recibían el siguiente tratamiento diferencial:

- Grupo Positivo Contingente: los animales pertenecientes a este grupo fueron sometidos a tres ensayos de condicionamiento concurrente de preferencia por un lugar de 15 minutos cada uno, en días consecutivos, idénticos al aplicado durante el establecimiento de la línea base: la administración de la corriente eléctrica es siempre contingente a la estancia voluntaria del animal en el compartimento del laberinto asociado a la estimulación.
- Grupo Control Contingente: se le aplica el mismo procedimiento anterior, excepto en lo referente a la estimulación eléctrica, que estos animales no reciben en ningún caso.
- Grupo Positivo No-contingente: los animales integrantes de este grupo fueron sometidos, en días sucesivos, a tres ensayos de estimulación eléctrica confinados en la zona del laberinto asociada a la estimulación, de manera que la duración de la estimulación en estos ensayos estuvo siempre determinada por los resultados obtenidos (tiempo de activación) por su homólogo del Grupo Positivo Contingente. A modo de ejemplo, si el sujeto 1 del Grupo Positivo Contingente permanecía en el compartimento asociado a la estimulación durante 8 minutos y 32 segundos, la duración del ensayo de condicionamiento de preferencia por un lugar secuencial para el animal 1 del Grupo Positivo No-contingente fue de 8 minutos y 32 segundos.
Esto es, la administración de la estimulación eléctrica de este grupo se realizaba de manera no contingente al comportamiento del animal, puesto que se recibe, como se indica más arriba, mientras el animal se encuentra confinado en el área del laberinto asociada a la estimulación.
- Grupo Control No-contingente: sus integrantes reciben idéntico tratamiento al del Grupo Positivo No-contingente, exceptuando naturalmente la estimulación eléctrica intracerebral.

FASE 4: TEST DE CONDICIONAMIENTO CONCURRENTE DE PREFERENCIA POR UN LUGAR.

Todos los grupos son sometidos a una prueba de condicionamiento concurrente por un lugar de 15 minutos de duración, que permitiera comparar los datos obtenidos con los del ensayo de línea base.

FASE 5: ENSAYOS POST-TEST DE CONDICIONAMIENTO CONCURRENTE DE PREFERENCIA POR UN LUGAR.

Transcurridas 24 horas desde la prueba anterior, se realizan tres ensayos de condicionamiento concurrente de preferencias por un lugar, de quince minutos de duración, en días consecutivos. El objetivo pretendido con esta última fase experimental ha sido el de examinar la consistencia de los resultados obtenidos en el test de aprendizaje a través de los distintos grupos, así como durante los cuartos ensayos de condicionamiento concurrente por un lugar de ambos Grupos Positivos y, por lo tanto, con similar experiencia en las pruebas específicas de aprendizaje concurrente (Figura 39).

Procedimiento histológico

Tras finalizar las pruebas conductuales, todos los animales intervenidos recibieron una sobredosis de pentotal sódico (Thiopental Sódico, Laboratorios Abbot S.A., Madrid) y se efectuó una pequeña lesión electrolítica en la zona donde estaba localizado el electrodo. Posteriormente, fueron perfundidos con suero salino y una solución de formol intra-cardíaco. Los cerebros fueron extraídos y conservados en paraformaldehído al 10% durante varios días para posteriormente ser seccionados en láminas coronales de 60 micras con un microtomo por congelación. La posición de los electrodos fue verificada utilizando una tinción con Violeta de Cresilo, y posteriormente fotografiada (Microfotografía 11).

RESULTADOS

FASE 1: CONDICIONAMIENTO CONCURRENTENTE DE PREFERENCIA POR UN LUGAR

Siguiendo el criterio conductual de distribución de animales propuesto en el primer capítulo, inicialmente se formó un grupo implantado “positivo” constituido por 14 animales cuyo tiempo medio de permanencia en la zona del laberinto asociada a la estimulación en el segundo ensayo de esta fase fue de 484,14 segundos, y cuyos miembros fueron divididos posteriormente en dos grupos de 7 animales siguiendo el procedimiento de grupos pareados. El grupo de animales intactos permaneció de media 279,47 segundos en la zona del laberinto asociada a la estimulación.

FASES 2 y 4: COMPARACIÓN DEL ENSAYO DE LÍNEA BASE Y DEL TEST DE PRUEBA

Un ANOVA entre grupos con los datos obtenidos en las fases 2 y 4 (establecimiento de la línea base y test), revela un efecto principal significativo del tratamiento ($F_{(1,35)} = 9.1846$, $p < 0.0161$) y del grupo ($F_{(1,35)} = 9.1846$, $p < 0.0056$), pero no el efecto de la interacción ($F_{(1,35)} = 2.0950$, $p < 0.1263$).

Los resultados de las comparaciones planeadas especifican que no se existen diferencias significativas en el Grupo Positivo Contingente ($F_{(1,35)} = 0.225465$, $p < 0.639029$) ni en su Grupo Control ($F_{(1,35)} = 3.980314$, $p < 0.057044$). Sin embargo, los resultados muestran que existen diferencias significativas en el Grupo Positivo No-contingente ($F_{(1,35)} = 8.949625$, $p < 0.006161$), pero no en su Grupo Control ($F_{(1,35)} = 2.505162$, $p < 0.126044$).

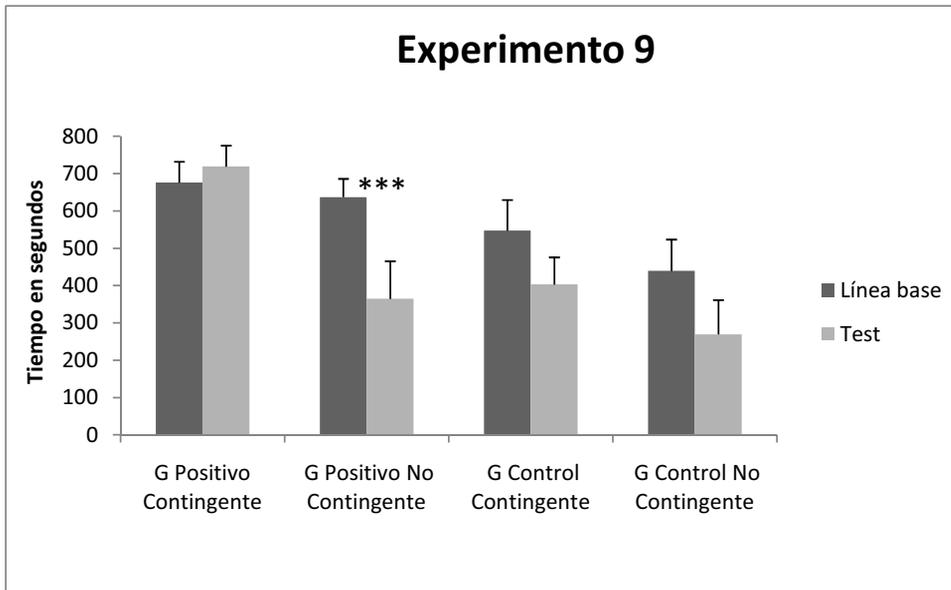


Figura 38. Representación gráfica de los resultados obtenidos en el Experimento 9. La ordenada representa el promedio de tiempo en segundos que ha permanecido cada grupo en el compartimento del laberinto asociado a estimulación en la fase de línea base y en la fase de test.

FASE 5: ENSAYOS POST-TEST DE CONDICIONAMIENTO CONCURRENTES DE PREFERENCIA POR UN LUGAR

Finalmente, se realizó un ANOVA para comparar los datos del ensayo test (4º CPPc) del grupo positivo contingente y los datos del cuarto ensayo de condicionamiento concurrente post-test del grupo positivo no-contingente (4º CPPc). El resultado demuestra diferencias significativas entre estos dos grupos positivos ($F_{(1,12)} = 25.36$, $p < 0.0003$), lo que sugiere que las diferencias obtenidas no dependen del hecho de que el grupo positivo no-contingente tenga menos experiencia en tareas con el laberinto completo. Las diferencias significativas se mantienen cuando se igualan el número de ensayos concurrentes recibidos por ambos grupos (Figura 39).

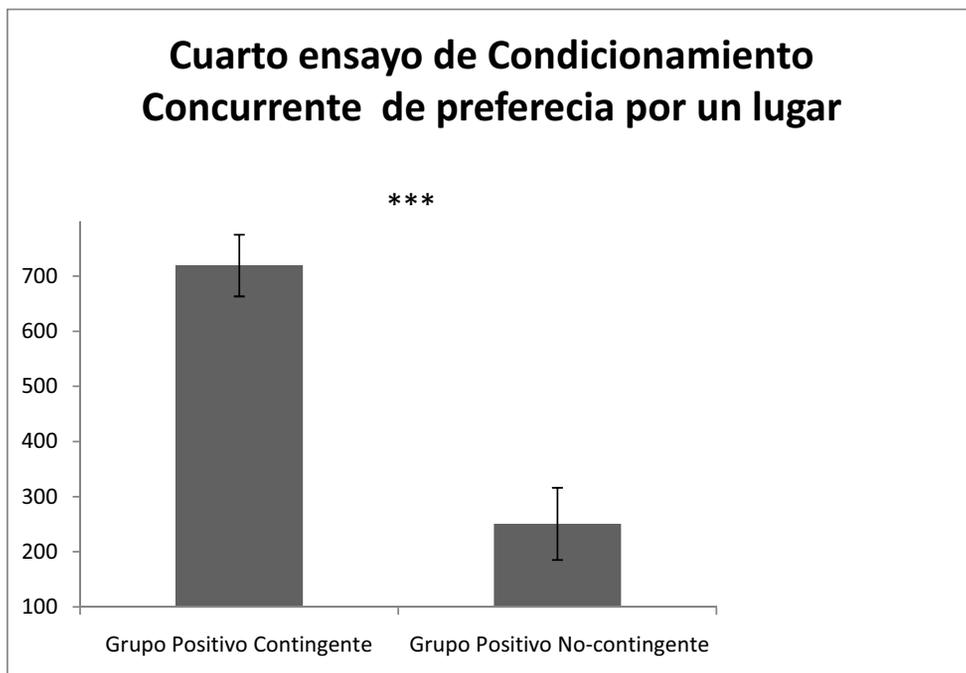


Figura 39. Representación gráfica las preferencias mostradas por los Grupos Positivos Contingente y No-contingente durante sus respectivos cuartos ensayos de CPPc. En el Grupo Positivo Contingente, el 4º ensayo tuvo lugar durante el test, mientras que en el Grupo Positivo No-contingente ocurrió después del test.

Es más, un nuevo ANOVA entre todos los grupos durante los ensayos contingentes post-prueba revela un efecto principal significativo del grupo ($F_{(3,25)}=7,66$; $p < 0,0009$), pero no del nº de ensayos post-prueba ($F_{(2,50)}=1,51$; $p < 0,2309$), ni tampoco una interacción significativa ($F_{(6,50)}=0,19$; $p < 0,9789$). En esta última fase, se obtienen diferencias significativas entre el grupo Positivo Contingente y su Control Contingente ($F_{(1,25)}=9,98$; $p < 0,004106$), pero no entre el grupo Positivo No-contingente y su Control No-contingente ($F_{(1,25)}=0,46$; $p < 0,503324$). Finalmente, también se han obtenido diferencias significativas entre los grupos Positivos Contingente y No-contingente ($F_{(1,25)}=19,65$; $p < 0,000162$).

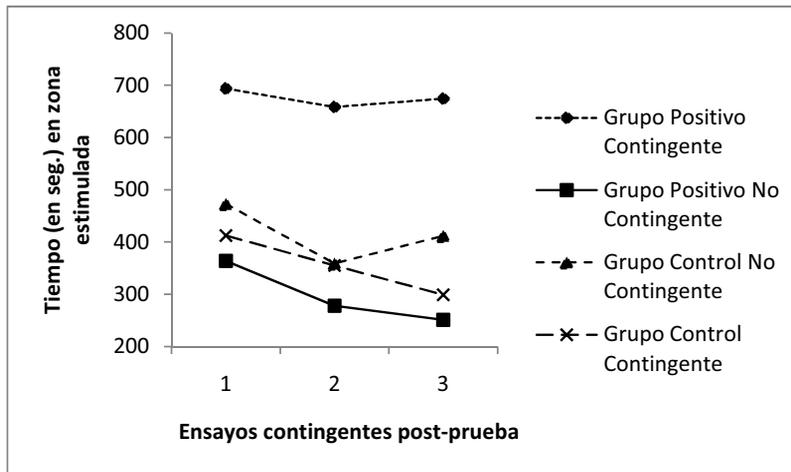
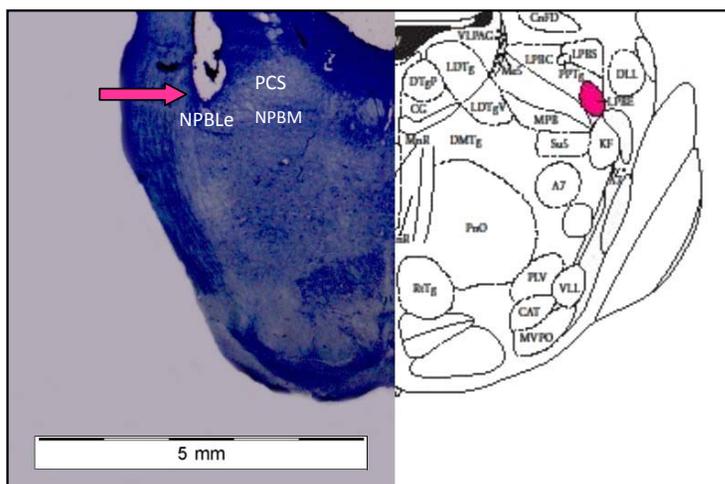


Figura 40. Representación gráfica de resultados obtenidos durante los ensayos contingentes realizados después del test (Fase 5).

Por otra parte, a continuación se muestra una microfotografía obtenida como resultado del procedimiento histológico:



Microfotografía 11. Localización del electrodo en un sujeto perteneciente al Grupo Positivo No-Contingente. Abreviaturas: NPBM: Núcleo parabraquial medial; NPBLe: Núcleo parabraquial lateral externo; PCS: Pedúnculo Cerebeloso Superior.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio sugieren que la modalidad de administración del estímulo reforzante, contingente o no contingente a la conducta del animal, puede ser una variable determinante en el mantenimiento o no del efecto recompensante de la estimulación eléctrica del NPBL e tras su administración repetida, y que se manifiesta en un descenso del tiempo que los animales permanecen en la zona del laberinto asociada a la estimulación cuando ésta se administra de manera no contingente a su conducta. Sin embargo, cuando la administración de la estimulación eléctrica se realiza de manera contingente a la conducta, su capacidad reforzante no se ve comprometida, lo que se manifiesta en la preferencia por la zona del laberinto asociada a la estimulación en el caso de estos animales.

Este factor (contingente/no contingente) puede constituir la principal diferencia entre la modalidad de estimulación eléctrica intracerebral utilizada en esta Tesis Doctoral y la autoestimulación cerebral que, por ejemplo, se obtiene en el Hipotálamo Lateral, y en la que el animal debe realizar una conducta instrumental para conseguir la corriente eléctrica apetitiva. No se conocen datos en la bibliografía científica, a pesar del tiempo transcurrido desde su descubrimiento en 1954, que demuestren casos de habituación o tolerancia hacia los efectos recompensantes o reforzantes de la conducta inducidos a través de autoestimulación eléctrica intracerebral. Podría ser relevante el hecho de que la autoestimulación eléctrica intracerebral típica es una forma activa de recibir la estimulación y, por ello, los animales autoestimuladores no desarrollen tolerancia a sus efectos reforzantes.

Concretamente, y a diferencia de este hecho, la estimulación eléctrica del NPBL e y la Corteza Insular Agranular Posterior, que se ha utilizado en esta Tesis Doctoral, no consigue sustentar las conductas de autoestimulación cerebral típicas en los animales positivos (criterios de las tablas 1 y 2) (Simón, 2003; García, 2009).

Una vez más, uno de los campos en los que se han investigado los efectos diferenciales de esta variable (modalidad de administración contingente y no contingente) es en el ámbito de las drogas de abuso (Smith, Co, Freeman & Lane, 1982; Hemby, Co, Koves, Smith & Dworkin, 1997; Lecca, Cacciapaglia, Valentín, Acquas & Di Chiara, 2007a; 2007b).

Así, por ejemplo, se ha comprobado que la liberación de dopamina tras la administración de heroína o cocaína varía en función de su carácter contingente, o no, a la acción del animal (Carelli, King, Hampson & Deadwyler, 1993; Hemby et al., 1997; Lecca et al., 2007b). La liberación dopaminérgica, en la primera sesión en la que los animales son expuestos a la droga,

es mayor cuando la administración es contingente, particularmente en la cápsula del núcleo accumbens, y se mantiene incrementada a lo largo del desarrollo de las sesiones (Carelli et al., 1993; Hemby et al., 1997; Lecca et al., 2007a; 2007b). Por el contrario, en el grupo no contingente, conforme las sesiones van repitiéndose, se produce un descenso progresivo en la dopamina liberada en la cápsula, a la vez que aumenta su liberación en la parte central del núcleo accumbens. En este sentido, en el grupo que recibía la droga de manera contingente a su conducta, se observó que se mantiene una liberación de dopamina incrementada en la cápsula en comparación con la observada en la parte central del núcleo accumbens a lo largo del desarrollo de las sesiones (Lecca et al., 2007a; 2007b). Lecca et al., (2007a; b) señalan también que los animales del grupo no contingente muestran un progresivo aumento de conductas estereotipadas, de manera que tras cuatro semanas de tratamiento, estos comportamientos predominan progresivamente sobre la conducta no estereotipada. Este hecho no se produce en el grupo de animales autoadministradores (contingente), en los que la conducta no estereotipada permaneció a lo largo de las diferentes sesiones de exposición a la droga.

En esta línea, algunos autores han descrito respuestas genómicas específicas en la cápsula del núcleo accumbens dependiendo del modo de administración de la heroína y la cocaína (Jacobs et al., 2002; 2003). Específicamente, la administración contingente de heroína produjo una regulación a la baja de los factores de transcripción de los genes en esta región, mientras que la exposición no contingente resultó inefectiva en este sentido (Jacobs et al., 2002).

Otras investigaciones sobre el efecto diferencial de la administración contingente o no contingente de morfina (Smith, Co, Freeman & Lane, 1982) revelan importantes diferencias estructurales y funcionales que afectan a regiones neuroanatómicas, sobre todo límbicas, así como a diferentes sistemas neurotransmisores (norepinefrina, serotonina, GABA, glutamato, y por supuesto, dopamina). Concretamente, la administración no contingente de morfina produjo cambios dopaminérgicos en el caudado-putamen y el globo pálido principalmente, mientras que la administración contingente de la mencionada droga produjo sus mayores cambios (a nivel neuroquímico) en una mayoría de estructuras límbicas.

Por otra parte, resulta interesante destacar que el modo de administración de las drogas de abuso puede interactuar también con la autoestimulación eléctrica intracerebral. Así, Moolten y Kornetsky (1990) han demostrado que la administración de etanol provoca una reducción de los umbrales de AEIC sólo en el caso de que se realice de manera contingente a la conducta del animal. Es decir, si el animal controla la administración de etanol, su consumo provoca una reducción de los umbrales de AEIC, mientras que en el caso de que el animal reciba el etanol de

manera no contingente a su comportamiento, su consumo no produce ningún efecto sobre los umbrales autoestimulatorios.

Por otra parte, se ha propuesto que el proceso de tolerancia podría ser modulado por índices del entorno asociados al consumo de las sustancias de abuso (Siegel, 1999; Siegel et al., 2000; Siegel & Ramos, 2002). Así, los resultados descritos en el capítulo anterior podrían ser explicados inicialmente a partir del hecho de los animales pertenecientes al Grupo Positivo 1 habrían recibido el doble de ensayos de condicionamiento que los del Grupo Positivo 2, un proceso de aprendizaje más robusto y, como consecuencia de ello, la mera presencia de los índices contextuales del compartimento habrían puesto en marcha respuestas compensatorias, que contrarrestarían el efecto recompensante de la estimulación eléctrica intracerebral. Sin embargo, los resultados de este capítulo no apoyarían esta explicación, pues ahora los ensayos de condicionamiento están igualados en ambos grupos positivos y, aún así, se observa una clara reducción del efecto recompensante de la estimulación eléctrica del NPBL en el Grupo Positivo No-contingente.

Finalmente, se ha examinado la implicación de las otras interpretaciones alternativas ofrecidas para explicar la reducción del efecto reforzante de la estimulación eléctrica del NPBL y en particular las referidas al uso de diferentes intervalos de tiempo inter-dosis. Así, en el caso de la administración de sustancias de abuso opiáceas que siguen un patrón continuo, se favorece el desarrollo de la tolerancia en manifestaciones tales como la analgesia y el refuerzo, mientras que la administración discontinua o intermitente, suele estar relacionada, en mayor medida, con el desarrollo de sensibilización (Kreek & Koob, 1998; Viganò et al., 2003; Hyman et al., 2006; Koob & LeMoal, 2006). En los Experimentos 7 y 8, la administración de la corriente eléctrica siguiendo un patrón continuo ha provocado que en los animales de los Grupos Positivos 1 se produzca una reducción de su efecto recompensante, mientras que un patrón intermitente de administración (Grupos Positivos 2) no produce ningún efecto reseñable, ya que estos animales siguen mostrando la habitual preferencia por el lugar del laberinto asociado a la estimulación eléctrica. Sin embargo, los resultados de este capítulo descartan esta explicación, ya que en los Grupos Contingente y No contingente se aplica el mismo programa de estimulación, con los mismos intervalos inter sesiones y, aún así, la respuesta comportamental de los animales resulta muy diferente.

De acuerdo con los resultados de este último estudio, se podría concluir que entre las potenciales variables implicadas en la reducción (habitación, tolerancia) del efecto recompensante de la estimulación eléctrica, tras su uso repetido, no se deben incluir el número

de ensayos recibidos, el volumen de estimulación eléctrica intracerebral aplicada o los intervalos inter-sesiones del programa de estimulación, sino que más probablemente la variable determinante podría ser el control que el animal ejerce sobre la estimulación, si la aplicación o no de corriente eléctrica depende de su propio comportamiento, si es contingente o no contingente.

DISCUSIÓN GENERAL

DISCUSIÓN GENERAL

Los estudios psicobiológicos que sustentan esta Tesis Doctoral están relacionados con el efecto de carácter aversivo (Experimentos 1, 2, 3 y 5) o apetitivo (Experimentos 4, 5, 6, 7, y 9) que puede evocar la estimulación eléctrica del NPBL. Este efecto aversivo o apetitivo se pone de manifiesto cuando se asocian las consecuencias motivacionales de la estimulación eléctrica intracerebral con claves del entorno, algo que, por otra parte, suele ser consistente para cada animal. Así, Simón y colaboradores (2008) han comprobado que esta consistencia comportamental se mantiene incluso a través de tareas experimentales completamente diferentes. Este comportamiento, de aversión o preferencia, evocado por la estimulación eléctrica del NPBL, podría ser dependiente de la localización precisa del electrodo, que afectaría en unos casos a las células implicadas en el procesamiento apetitivo y en otros, a sustratos de índole aversiva y que estarían situados muy próximos en este núcleo cerebral. La estimulación eléctrica modificaría así el valor del entorno asociado, de manera que índices contextuales que inicialmente mostraban un valor neutro, adquieren ahora propiedades motivacionales que podrían ser apetitivas o aversivas. Más aún, existe la posibilidad teórica de que en ciertas ocasiones el electrodo implantado pueda provocar la activación simultánea de células positivas y negativas, lo cual explicaría la habitual conducta observada en los animales estimulados que han sido denominados "neutros". Esta interpretación sería compatible con los datos previamente obtenidos en el área parabraquial por otros autores (Simón et al., 2008). De hecho, esta región parece disponer de células sensibles a distintas propiedades motivacionales de los estímulos gustativos (Swank & Bernstein, 1994; Yamamoto et al., 1994a; Sakai & Yamamoto, 1997; Wang et al., 1999b; Yamamoto & Sawa, 2000a; Hajnal & Norgren, 2004; Andre et al., 2007; Geran & Travers, 2009; Hajnal et al., 2009), con interacciones mutuamente inhibitorias entre las células asociadas al valor hedónico positivo y negativo (Smith, Liu & Vogt, 1994; Karimnamazi, Travers & Travers, 2002; Seward, 2004).

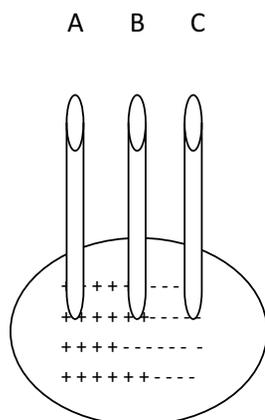


Figura 41. Representación gráfica de la propuesta explicativa de los resultados observados en los experimentos de esta Tesis Doctoral. La elipse mayor representaría al núcleo parabraquial lateral externo, dentro de la cual los signos + y – representarían células implicadas en el procesamiento motivacional apetitivo o aversivo, respectivamente. La ubicación del electrodo A indicaría que en este caso se estarían activando células recompensantes propias de los animales “positivos”; el electrodo C, por su parte, activaría sólo células negativas; y finalmente, el electrodo B sería característico de los animales neutros, en los que se produce la estimulación simultánea tanto de las células positivas como de las negativas.

Existen datos en la bibliografía neurobiológica actual que apoyan este fenómeno de activación contrapuesta dentro de una misma estructura neuroanatómica (que aparentemente incluye varios sistemas funcionales), y ejemplos de ello serían el ATV, la cápsula (*shell*) del núcleo accumbens y la corteza prefrontal medial, las cuales pueden actuar como sustratos de procesos motivacionales tanto apetitivos como aversivos (Salamone, 1994; Small et al., 2001; Reynolds & Berridge, 2002; Ventura, Morrone & Puglisi-Allegra, 2007; Brischoux et al., 2009). Algo semejante se ha observado con respecto a los efectos de ciertas sustancias neuroquímicas administradas a animales que posteriormente han sido examinados comportamentalmente. Este es el caso de algunos agonistas opiáceos, cuyos efectos recompensantes o aversivos dependen de la dosis utilizada, de la situación experimental, o de la localización anatómica del sistema neuroquímico implicado (D’Anci, 1999; Kanarek et al., 1997; 2000). Este fenómeno incluye también a drogas de abuso, como la morfina o la cocaína, las cuales se han mostrado como estímulos eficaces tanto en paradigmas de autoadministración como de Aprendizaje Aversivo Gustativo (Goudie, 1979; Hunt & Amit, 1987; Lancellotti et al., 2001; Grabus et al., 2004), al

tiempo que provocan inmunoreactividad C-Fos en el complejo parabraquial lateral (Grabus et al., 2004).

De todos modos, el hecho de que una misma sustancia pueda actuar como reforzador positivo o negativo en los mismos animales puede resultar todavía paradójico (Goudie, 1979; Hunt & Amit, 1987). En este sentido, la implicación de un mismo sistema neurotransmisor (véase el caso de la Dopamina, en la Introducción) en procesos motivacionales opuestos y comportamentalmente diferentes, pone de manifiesto la complejidad del procesamiento de las sustancias de abuso. En efecto, resulta llamativa la autoadministración (en roedores) de antagonistas dopaminérgicos, como el haloperidol y la sulpirida (Glick & Cox, 1975; Parada, Puig de Parada & Hoebel, 1995), unas sustancias que bloquean los efectos reforzantes de diversos agentes recompensantes (Fletcher & Higgins, 1997; Ivanová & Greenshaw, 1997; Yu et al., 2000; Di Ciano et al., 2003), al tiempo que pueden incrementar los niveles de dopamina extracelular en el núcleo accumbens (Parada et al., 1995).

En esta línea, diversos autores han detectado inmunoreactividad C-Fos en el núcleo parabraquial lateral externo tras la administración intragástrica de nutrientes y sustancias químicas que generan tanto preferencias, por ejemplo la sacarosa o la cocaína (Wang et al., 1999b; Yamamoto & Sawa, 2000a) como aversiones condicionadas, caso de la quinina, el LiCl, la lactosa y el etanol (Swank & Bernstein, 1994; Sakai & Yamamoto, 1997; Yamamoto & Sawa, 2000b; Andre et al., 2007).

Igualmente, ahora en seres humanos, se ha demostrado la existencia de la gran proximidad anatómica en los mecanismos responsables del procesamiento motivacional aversivo y apetitivo (Rolls, 2000; O'Doherty et al., 2001; Small et al., 2001). Concretamente, se ha constatado, por ejemplo, la implicación de la corteza insular en tareas experimentales de carácter tanto apetitivo como aversivo (Cechetto & Saper, 1987; Yamamoto et al., 1989; Phillips et al., 1997; Cubero et al., 1999; Cubero & Puerto, 2000; Small et al., 2001).

Los resultados obtenidos en el primer Experimento de esta Tesis Doctoral demuestran que la estimulación eléctrica del NPBL induce conductas aversivas hacia el lugar del laberinto con el que había sido asociada. Este efecto aversivo, mostrado a través de un procedimiento de aprendizaje con estimulación eléctrica concurrente, puede ser bloqueado mediante la administración de naloxona, un antagonista opiáceo (ver Introducción, p. 41).

Inicialmente, resulta contraintuitivo el bloqueo del efecto aversivo de la estimulación eléctrica mediante la administración de un fármaco como la naloxona, con efectos aversivos. Es un hecho bien establecido que mientras los opiáceos, como la morfina o la heroína, inducen preferencias relacionadas con un contexto estimular determinado (MacKey et al., 1985; MacKey et al., 1986; Dymshitz & Lieblich, 1987; Leone & Di Chiara, 1987; Suzuki & Misawa, 1995; Olmstead & Franklin, 1996; Contarino et al., 1997; Piepponen et al., 1997; Xu et al., 2001; Rezaïof et al., 2002; 2003; Milekic et al., 2006), la administración de naloxona induce aversiones condicionadas (Mucha, Millan & Herz, 1985; Dymshitz & Lieblich, 1987; Santi & Parker, 2001). Sin embargo, se ha comprobado que la administración subcutánea de dosis muy bajas de antagonistas opiáceos, como la naloxona (10 ng/Kg) o la naltrexona (5 ng/kg), puede suprimir tanto los efectos reforzantes de los agonistas opiáceos como los efectos aversivos de la abstinencia opiácea (Olmstead & Burns, 2005; Powell et al., 2002; Wang et al., 2005). El mecanismo neuroquímico concreto de este bloqueo de los efectos opiáceos reforzantes y aversivos mediante antagonistas opiáceos no ha sido establecido por el momento. Una supresión de las neuroadaptaciones celulares que subyacen a la tolerancia y la dependencia opiácea no puede descartarse y, así, se ha demostrado que la administración de pequeñas dosis de naloxona atenúan las modificaciones moleculares que se producen como consecuencia de la administración crónica de opiáceos, por ejemplo, la alteración en la proteína G del receptor opiáceo μ (Wang et al., 2005). Por otra parte, se ha demostrado que la exposición a agonistas opiáceos no sólo provoca la desensibilización de los receptores opiáceos, sino que además incrementa la actividad basal de esos receptores y/o favorece que los antagonistas opiáceos actúen como agonistas inversos, especialmente la naloxona (Wang, Sun & Sadee, 2007). Esta implicación del sistema opiáceo endógeno en procesos de abstinencia no parece ser exclusiva de los opiáceos, ya que también se han descrito alteraciones de los receptores opioides μ y δ en la abstinencia a la cocaína (Zubieta et al., 1996; Ambrose-Lanci et al., 2008).

En este contexto, la administración de naltrexona combinada con morfina durante un periodo de siete días a animales no tolerantes consiguió inhibir el descenso en la antinocicepción opiácea y, así, prevenir la pérdida de la potencia analgésica de la morfina (Shen & Crain, 1997;

Powell et al., 2002; McNaull, Trang, Sutak & Jhamandas, 2007). Igualmente, al administrar naltrexona a animales que ya habían desarrollado tolerancia a los efectos antinociceptivos de la morfina, se observó un restablecimiento significativo de la potencia analgésica de esta sustancia (Shen & Crain, 1997; Powell et al., 2002; McNaull, et al., 2007). En resumen, dosis bajas de naltrexona aumentan paradójicamente la analgesia morfinica e inhiben o revierten la tolerancia, un fenómeno que podría estar mediado por receptores opiáceos kappa, ya que este efecto puede ser reproducido utilizando antagonistas opiáceos kappa, como la pentazocina o la nor-binaltorfimina (Crain & Shen, 2007; Chiba et al., 2009). Estos receptores opiáceos, junto a los μ , están presentes en el complejo parabraquial (Quirion et al., 1983; Lynch et al., 1985; Mansour et al., 1994; 1995; Wolinsky et al., 1994; 1996; Ding et al., 1996; Chamberlin et al., 1999), y han sido relacionados con los procesos aversivos (Shippenberg, Millan, Mucha & Herz, 1988b; Land et al., 2008), incluso con la abstinencia de drogas de abuso como la cocaína, los opiáceos o el etanol (Koob, 2008).

En este sentido, los resultados preliminares obtenidos utilizando muestras de sujetos humanos en proceso de desintoxicación han resultado alentadores. La adición de naltrexona a los tratamientos de deshabitación clásicos, genera una reducción de los síntomas de abstinencia y del ansia (*craving*) por consumir drogas de abuso (Rabinowitz, Cohen & Atias, 2002; Mannelli et al., 2009a; 2009b).

De manera similar, en este primer experimento de la Tesis Doctoral se han inducido conductas de aversión condicionada mediante un procedimiento de aprendizaje concurrente, es decir, un procedimiento en el cual la administración de la estimulación eléctrica intracerebral se produce en función del comportamiento del animal. En estas condiciones, la administración de una dosis de 4 mg/kg de naloxona bloquea la adquisición de nuevas aversiones condicionadas, aparentemente la estimulación eléctrica deja de resultarles aversiva a los animales. Así, estos resultados resultan compatibles, por tanto, con los estudios mencionados más arriba y en los que dosis bajas de los antagonistas opiáceos podrían reducir los efectos aversivos de las drogas de abuso. En conclusión, los antagonistas opiáceos parecen reducir tanto la aversión por el lugar inducida por la abstinencia opiácea (Powell et al., 2002; Olmstead & Burns, 2005; Wang et al., 2005) como la provocada por la activación eléctrica de un núcleo cerebral concreto, el NPBL_e, y probablemente disminuyan incluso los síntomas de abstinencia y el ansia que se producen en la drogadicción humana (Rabinowitz, Cohen & Atias, 2002; Mannelli et al., 2009a; 2009b). Todos estos datos sugieren que este subnúcleo parabraquial particular, el NPBL_e, pueda

probablemente estar formando parte del sistema cerebral responsable del fenómeno de la abstinencia opiácea.

En los siguientes Experimentos de esta Tesis Doctoral se demuestra que la administración de tiapride (antagonista dopaminérgico D2/D3) puede bloquear el proceso de adquisición de aversión hacia un lugar inducida mediante estimulación eléctrica del NPBL (Experimentos 2 y 3). Estos datos son compatibles con los resultados experimentales que atribuyen a la dopamina un papel esencial en el procesamiento aversivo (Sanger, 1987; Shippenberg & Herz, 1987; White et al., 1992; Cenci et al., 1992; Imperato et al., 1992; McCullough & Salamone, 1992; Salamone, 1994; Doherty & Gratton, 1997; Wilkinson et al., 1998; Di Chiara et al., 1999; Fenu et al., 2001; 2005; Jensen et al., 2003; Fuchs et al., 2005; Young et al., 2005). Los datos obtenidos en este experimento son compatibles tanto con la denominada "Teoría de la Saliencia Incentiva" (Berridge, 2003; Phillips, 2003; Robinson & Berridge, 2003; Robinson et al., 2005) como con la "Teoría de la reactividad emocional o motivacional" (Chiodo et al., 1980; Salamone, 1992; 1994; Salamone et al., 1997). En ambos casos, se pone de manifiesto el papel central de la dopamina en el procesamiento motivacional, tanto apetitivo como aversivo, pero de acuerdo con la primera propuesta, no tanto en la valoración hedónica de los estímulos como en la "saliencia incentiva" (proceso no hedónico que destaca a un estímulo y a sus representaciones y que se atribuye, sobre todo, a estímulos condicionados o claves de recompensa). En el caso de "la reactividad motivacional" (arousal conductual que se presenta típicamente en respuesta a estímulos de carácter emocional/motivacional), la dopamina facilitaría la articulación de procesos sensoriomotores complejos implicados en la consecución de estímulos recompensantes y en la evitación de estímulos aversivos. Como puede apreciarse, se trata de dos constructos teóricos muy relacionados y referidos más a la acción y búsqueda de la sustancia en cuestión que al procesamiento de sus propiedades hedónicas (una explicación más amplia fue desarrollada en la Introducción, p. 34-40).

Concretamente, se ha demostrado que los antagonistas dopaminérgicos pueden interferir con diversas conductas motivadas aversivas, tales como el aprendizaje aversivo gustativo (Fenu et al., 2001) o las conductas instrumentales de evitación activa (Davidson & Weidley, 1976; Wadenberg et al., 1990; White et al., 1992; McCullough et al., 1993) y escape (Davidson & Weidley, 1976; Sanger, 1987). Sin embargo, estos últimos datos deben ser tomados con cierta cautela, ya que los resultados obtenidos mediante tareas de aprendizaje de evitación pasiva resultan contradictorios y confusos (Brammer, 1981; Ichiara et al., 1988; Castellano et al., 1992). Así, por ejemplo, mientras el haloperidol, administrado después de un estímulo eléctrico

aversivo, puede producir un descenso en el rendimiento de este tipo de tareas de evitación pasiva, afectando probablemente a la consolidación de la memoria (Castellano et al., 1992), otros investigadores, por el contrario, consideran que la pimozida facilita el aprendizaje de evitación pasiva (Ichiara et al., 1989). Finalmente, otros estudios no observan efecto alguno o efectos muy débiles al administrar dosis moderadas de clorpromazina, haloperidol y sulpirida antes de que los animales reciban los estímulos eléctricos aversivos (Brammer, 1981; Ichiara et al., 1988).

De manera análoga a lo descrito para los antagonistas opiáceos, a saber, que pueden bloquear tanto el refuerzo como la aversión inducidos con morfina (Powell et al., 2002; Olmstead & Burns, 2005; Wang et al., 2005), los antagonistas dopaminérgicos (particularmente de los receptores D1) también pueden bloquear tanto los efectos reforzantes inducidos por la morfina, la nicotina y el diazepam como los efectos aversivos inducidos mediante la administración de naloxona, penciclidina y picrotoxina (Acquas, Carboni, Leone & Di Chiara, 1989; Santi & Parker, 2001).

Muy interesante es la propuesta del equipo de investigación del Profesor Van der Kooy, de la Universidad de Toronto, según la cual las lesiones del núcleo tegmental pedúnculo-pontino bloquean las propiedades reforzantes de la morfina en ratas *naïve*, pero no en ratas dependientes; mientras que los neurolépticos interfieren con los efectos hedónicos (recompensantes y aversivos) de los opiáceos en animales dependientes, pero no en los roedores *naïve* (Bechara, Harrington, Nader & Van der Kooy, 1992). También demuestran que los neurolépticos bloquean las aversiones hacia el entorno inducidas mediante la administración de naloxona o mediante la abstinencia espontánea en ratas dependientes de opiáceos, pero no en ratas *naïve* (Nader et al., 1994; Bechara, Nader & Van der Kooy, 1995). Según esta propuesta, los mecanismos primarios subyacentes al refuerzo opiáceo, en el estado no dependiente, estarían en función de sus propiedades agudas, y que estarían mediadas por el núcleo tegmental pedúnculo-pontino. Por su parte, en el estado dependiente, la recompensa estaría asociada al alivio de la abstinencia, y sólo cuando esta abstinencia ha sido contrarrestada (por ejemplo, mediante la administración morfina), los animales dependientes pueden percibir esta recompensa aguda mediada por el núcleo tegmental pedúnculo-pontino (Bechara, Nader & Van der Kooy, 1998).

En este contexto, estos autores han propuesto al área parabraquial lateral, de un modo general, como sustrato neural del procesamiento aversivo de las sustancias opiáceas (Bechara et al., 1993), y en el cual parece que finalizaría (previo paso por el NTS) la información aversiva vagal de origen periférico (Bechara & Van der Kooy, 1985) que habría de proyectar después hacia el mesencéfalo (Zito et al., 1988) y el cortex visceral (MacKey et al., 1986) a través de las proyecciones dopaminérgicas mesocorticales (Lindvall et al., 1978; Dawson et al. 1986; Coizet et al., 2010).

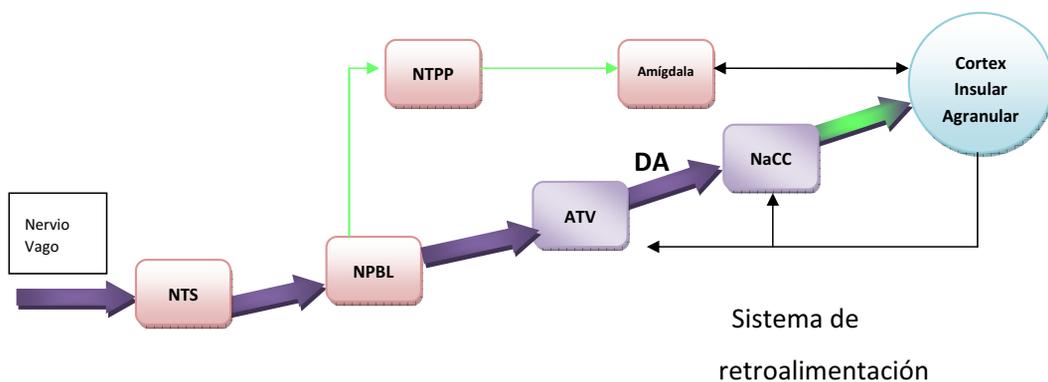


Figura 42. Hipotético esquema anatómico que representaría la posible vía ascendente relacionada con el procesamiento hedónico y motivacional. NTS= Núcleo del Tracto Solitario; NPBL= Núcleo Parabraquial Lateral; ATV= Área Tegmental Ventral; NaCC= Núcleo Accumbens; NTPP= Núcleo Tegmental Pedúnculo Pontino; DA= Dopamina (Loewy & Burton, 1978; Saper & Loewy, 1980; Fulwiler & Saper, 1984; Bechara et al., 1985; 1993; 1998; McDonald & Jackson, 1987; McDonald, 1991; 1998; Wright & Groenewegen, 1996; Shi & Cassell, 1998a; Usuda et al., 1998; Fernández-Espejo, 2002; Tokita et al., 2009; Coizet et al., 2010). Las flechas en color verde no disponen de apoyo bibliográfico.

En consonancia con los estudios descritos y según los cuales los neurolépticos pueden bloquear las aversiones por el lugar condicionadas mediante la administración de naloxona o por abstinencia espontánea en animales dependientes a los opiáceos (Nader et al., 1994; Bechara et al., 1995), ahora los resultados de los Experimentos 2 y 3 ponen de manifiesto también que los antagonistas dopaminérgicos (en este caso, el tiapride) bloquean el desarrollo de las aversiones hacia un lugar condicionadas inducidas mediante estimulación eléctrica de un subnúcleo particular del Complejo Parabraquial, el NPBL.

Aunque algunos estudios relacionan globalmente a la región parabraquial con procesamientos aversivos de distinta índole, estudios en nuestro laboratorio han demostrado que tanto las lesiones del área parabraquial medial como particularmente del NPBL bloquean la adquisición de Aprendizaje Aversivo Gustativo concurrente inducido mediante la administración de NaCl hipertónico (Agüero et al., 1997; Mediavilla et al., 2000).

En efecto, dentro del conjunto de núcleos y sistemas cerebrales, la zona parabraquial lateral externa ha sido incluida como una de las áreas implicadas en el procesamiento aversivo de tipo afectivo, incluyendo entre ellos el procesamiento gustativo. En relación con esto, se han distinguido dos vías gustativas que surgen desde el complejo parabraquial (Yamamoto et al., 1994a; 1994b; Sakai & Yamamoto, 1998; Yamamoto & Sawa, 2000a; 2000b; Yamamoto, 2006):

- Una de ellas surge de los núcleos parabraquiales lateral ventral y medial, y proyecta hacia el núcleo talámico ventroposteromedial, el área gustativa talámica, y a través de ella hacia el cortex gustativo primario.
- La segunda vía gustativa tiene su origen precisamente en el núcleo parabraquial lateral externo (Bernard, Carroué & Besson, 1991) y se distribuye ampliamente por el prosencéfalo ventral, estableciendo conexiones con el hipotálamo, la amígdala y el núcleo lecho de la estría terminal, entre otros.

Hajnal y Norgren (2004) proponen, por su parte, que la proyección talamocortical procesaría el componente sensorial-discriminativo del gusto, mientras que en la vía ventral, originada en el núcleo parabraquial lateral externo (Bernard et al., 1991), incluiría el componente afectivo del sistema neural gustativo.

Un dato indicativo de la implicación del segundo de los circuitos mencionados en los procesos afectivos tendría que ver con el hecho de que en este sistema se incluyen aferencias viscerales y vagales relacionadas con la transmisión de la información de índole emético procedente del tracto gastrointestinal (Wang & Borinson, 1951; Van der Kooy & Koda, 1983; Herbert et al., 1990; Yamamoto et al., 1992; Stein & Loewy, 2010).

Existen también otros datos experimentales que incluyen al NPBL dentro de sistemas neurales relacionados con los componentes motivacionales y emocionales de la nocicepción (Bernard et al., 1994; Bourgeais et al., 2001; Gauriau & Bernard, 2002; Huang et al., 1993; Mitchell et al., 2004). Concretamente, Gauriau y Bernard (2002) consideran, dentro de las vías

básicas implicadas en el procesamiento del dolor, que el subnúcleo parabraquial lateral externo formaría parte de la “Vía nociceptiva espino(trigémico)-pontoamigdalina parasimpática” (Bernard, Garroué & Besson, 1991; Gauriau & Bernard, 2002), y que estaría implicada en las reacciones afectivas-emocionales, comportamentales y autonómicas propias de eventos viscerales y/o nocivos (Bernard et al., 1994), la cual incluiría llamativamente la presencia de receptores opiáceos (Chamberlin et al., 1999; Mitchell et al., 2004).

Dentro del contexto clínico, y en relación con los trastornos de pánico y los desórdenes de ansiedad (Balaban & Thayer, 2001), se considera que la región parabraquial estaría implicada en el sentido interno de bienestar (o ausencia del mismo). Participaría en la generación de respuestas conductuales y emocionales, y que podría estar relacionada, a través de sus receptores opiáceos (Quirion et al., 1983; Lynch et al., 1985; Mansour et al., 1994; 1995; Wolinsky et al., 1994; 1996; Ding et al., 1996; Chamberlin et al., 1999), con el componente afectivo de la nocicepción y del procesamiento de la morfina (Van der Kam et al., 2008).

Finalmente y en esta misma línea, podrían incluirse también los efectos positivos derivados de la estimulación del nervio vago (ENV) sobre todo en casos de epilepsia y de trastornos emocionales (Schachter & Saper, 1998; Schachter, 2004). Más aún, en este ámbito, se han detectado importantes efectos antidepresivos, sin evidencia de empeoramiento cognitivo, lo cual ha llevado a que en el año 2001 se aprobara la ENV como técnica terapéutica en todos los países miembros de la Unión Europea y en Canadá para tratamiento de pacientes adultos con depresión recurrente y resistente al tratamiento, incluyendo particularmente los desórdenes de depresión mayor y bipolar. Al parecer, este efecto beneficioso se deriva de la acción de la estimulación sobre el circuito vagal-parabraquial (Schachter & Saper, 1998; Schachter, 2004).

En resumen, existen datos que apoyan el hecho de que el NPBL puede ser un componente determinante en el procesamiento de respuestas aversivas de distinta índole (nociceptiva, gustativa, abstinencia opiácea...), pero que pueden compartir un denominador común, su carácter emocional y motivacional, un hecho compatible con la posibilidad de bloquear el efecto de su estimulación utilizando antagonistas opiáceos (Experimento 1).

En este primer capítulo se han examinado las posibles repercusiones motoras que pudieran producirse tras la administración de tiapride (Experimento 3). Conviene destacar inicialmente que los resultados obtenidos en este estudio reproducen los datos del experimento

anterior, a saber, que la estimulación eléctrica del NPBL induce aversión condicionada hacia un lugar, al tiempo que su adquisición es bloqueada tras la administración de una dosis de 30 mg/kg de tiapride. Ahora (Experimento 3) además de registrar los tiempos de estancia del animal en cada compartimento del laberinto, se han cuantificado también dos índices de actividad motora: la “actividad horizontal”, medida a través del número de cruces que realiza el animal al pasar de un compartimento a otro del laberinto; y la “actividad vertical” y, concretamente, el número de movimientos de alzada (*rearings*) que realiza el animal durante la tarea. Los resultados obtenidos indican que el tiapride no interfiere con la actividad horizontal, es decir, que la actividad requerida para realizar adecuadamente la tarea propuesta no parece haberse visto comprometida. Sí se aprecia, sin embargo, una cierta reducción en los movimientos de alzada tras la administración de tiapride, aunque sólo alcanza valores significativos en el caso del grupo control intacto, pero no en los demás grupos.

Son muy abundantes en la bibliografía las críticas metodológicas y teóricas por los efectos secundarios, sobre todo de tipo motor, que suele generar la administración de muchos neurolépticos (Zarevics & Setler, 1979; Beninger et al., 1980a; 1980b; Ettenberg et al., 1980; Fenton & Liebman, 1982; Hamilton et al., 1985; Peciña et al. 1997). Existe una interesante controversia al respecto y sobre todo acerca de la verdadera acción funcional de estas sustancias. Para algunos autores, estas sustancias generan un aumento en la latencia de respuesta (Carli et al., 1985; Spivak & Amit, 1986; White et al., 1992) o un enlentecimiento de la misma (Kirkpatrick & Fowler, 1989), unos resultados que, por otra parte, coinciden al menos parcialmente con los obtenidos habitualmente tras el uso de técnicas lesivas (Robbins & Koob, 1980). Parece improbable, en cualquier caso, que estos incrementos en la latencia de respuesta puedan explicarse por una mayor inhibición o por dificultades motoras per se, ya que este efecto enlentecedor de los neurolépticos puede ser revertido, por ejemplo, mediante un aumento en la complejidad o novedad ambiental (Lynch & Carey, 1987).

Por otra parte, parece bien establecido que la administración de ciertas drogas de abuso, como la morfina, las anfetaminas o la cocaína incrementa tanto las respuestas locomotoras horizontales como las verticales (*rearings* o movimientos de alzada) en roedores (Joyce & Iversen, 1979; Bechara & Van der Kooy, 1992; Brown & Fibiger, 1992; Deminière et al., 1992; Balcells-Olivero & Vezina, 1997; Schiltein, Agmo, Huston & Schwarting, 1998). Las diferencias individuales que se producen en este incremento de la locomoción han sido relacionadas generalmente con una mayor o menor vulnerabilidad de los animales para hacerse adictos

(Deminière et al., 1992). De hecho, el incremento de la locomoción puede ser bloqueado mediante antagonistas opiáceos (Dettmar et al., 1978; Balcells-Olivero & Vezina, 1997) y también mediante lesiones del núcleo tegmental pedúnculo-pontino (Bechara & Van der Kooy, 1992). Más aún, Brown y Fibiger (1992) comprobaron que al condicionar la locomoción inducida por cocaína, no se pudieron observar incrementos dopaminérgicos condicionados concomitantes. Algo semejante ocurre con respecto al efecto de los antagonistas dopaminérgicos sobre la conducta motora vertical, sin que ahora tampoco se obtengan efectos consistentes con antagonistas D3, como el PNU 99194A o el SB 277011, (Gendreau et al., 1997; Gyertyán & Sàghy, 2004), algo que resulta compatible con los resultados observados en el Experimento 3, en el cual el efecto del tiapride sobre los *rearings* sólo alcanza valores significativos en uno de los tres grupos (grupo control intacto).

Con respecto a esta última cuestión, conviene mencionar el hecho de que varios estudios han conseguido disociar el efecto de algunos tratamientos sobre la actividad motora horizontal y vertical (Balcells-Oliveros & Vezina, 1997; Roitman et al., 2002). Así, se ha demostrado que la administración de anfetaminas puede incrementar significativamente el número de *rearings* que realizan los animales, sin mostrar efecto sobre la conducta motora horizontal (Roitman et al., 2002). Es más, la administración de naltrexona bloquea los *rearings* inducidos mediante la administración de anfetaminas, sin efecto alguno sobre la actividad horizontal, lo cual sugiere que este tipo de actividad motora (*rearings*) es, al menos parcialmente, dependiente de mecanismos opiáceos y, en este sentido, puede estar relacionada con los sistemas de recompensa cerebral más que con una incapacidad motora (Balcells-Oliveros & Vezina, 1997). En el Experimento 3, sólo se observa un efecto reductor significativo del tiapride sobre la actividad motora vertical en el grupo control intacto, es decir, en animales que nunca han recibido estimulación eléctrica intracerebral aversiva. El tiapride podría estar bloqueando la recompensa natural obtenida por los animales controles al realizar la tarea experimental, por ejemplo, al verse expuestos a entornos novedosos. Para el resto de los grupos, que han recibido estimulación en algún momento, el tiapride puede interferir más con otros procesos puestos en marcha mediante la activación eléctrica del NPBL, y particularmente el resolver la problemática esencial que les puede generar la activación cerebral.

En resumen, de acuerdo con los datos obtenidos en estudios previos así como a través de los resultados obtenidos en este capítulo, se puede proponer que la estimulación eléctrica del NPBL podría haber activado sistemas cerebrales de índole aversiva especialmente relacionados con los componentes motivacionales y emocionales de la conducta. Estos sistemas

aversivos, que incluirían al NPBL, podrían verse activados de manera natural a través de estímulos gustativos (Bernard, Carroué & Besson, 1991; Yamamoto et al., 1994a; 1994b; Sakai & Yamamoto, 1998; Yamamoto & Sawa, 2000a; 2000b; Hajnal & Norgren, 2004; Yamamoto, 2006) o nociceptivos (Bernard, Garroué & Besson, 1991; Bernard et al., 1994; Gauriau & Bernard, 2002) por ejemplo, e incluso por estímulos de índole artificial, en el caso de la abstinencia opiácea (Bechara et al., 1993). Con respecto a esta última posibilidad se ha comprobado que el efecto de aversión condicionada inducida mediante abstinencia opiácea puede ser bloqueado también tanto a través de la administración de antagonistas opiáceos (Powell et al., 2002; Olmstead & Burns, 2005; Wang et al., 2005) como mediante neurolépticos (Bechara, Nader & Van der Kooy, 1995), unos resultados similares a los obtenidos en este primer capítulo de la Tesis, y en los que se demuestra que la aversión hacia un lugar inducida mediante la estimulación eléctrica del NPBL puede ser bloqueada también mediante la administración de antagonistas opiáceos (naloxona) y dopaminérgicos (tiapride).

Los resultados obtenidos en el segundo capítulo de esta Tesis Doctoral reproducen que la estimulación eléctrica del NPBL induce preferencias por los lugares que han sido asociados a la activación eléctrica de este núcleo. Asimismo, estos estudios confirman que la administración de naloxona bloquea la adquisición de preferencia por un lugar inducida por estimulación eléctrica del NPBL (Experimento 5), y sin embargo, demuestran ahora, novedosamente, que ese mismo proceso de adquisición no se interrumpe tras la administración de un antagonista dopaminérgico D2/D3, como el tiapride (Experimento 4). La administración de tiapride no parece interferir con el carácter reforzante de la estimulación eléctrica del NPBL y, tras su administración, los animales siguen mostrando una consistente preferencia por la zona del laberinto asociada a la estimulación.

Estos resultados confirman inicialmente que, en efecto, algunos componentes del NPBL procesan información de carácter reforzante al ser activadas eléctricamente (Simón et al., 2006; 2008). Estos resultados son compatibles con los datos obtenidos mediante técnicas

inmunohistoquímicas en las que se ha demostrado que la zona parabraquial lateral externa, entre otras regiones cerebrales, se activa tras la administración de sustancias nutritivas reforzantes, como la lactosa, la sacarosa o la glucosa (Wang et al., 1999b; Yamamoto & Sawa, 2000a), antimetabólicos como el 2,5-anhidro-D-mannitol o el Mercaptoacetato (Ritter, 1994; Ritter et al., 1994; Horn & Friedman, 1998) y productos apetitosos como la sacarina o el CNa (Yamamoto et al., 1994a; Yamamoto & Sawa, 2000b), cuyas consecuencias positivas parecen estar relacionadas con una reducción de los estados de necesidad/privación o, también, con su valor hedónico—por ejemplo, su *palatabilidad*- (Carr, 1996; Le Magnen & Julien, 1999).

Por el contrario, lesiones electrolíticas del NPBL interrumpen las preferencias gustativas generadas por sustancias innatamente preferidas o que tienen consecuencias postingestivas como la sacarosa o el CNa (Reilly & Trifunovic, 2000a; Zafra et al., 2002) o simples productos apetitosos -galletas- (Edwards & Ritter, 1989). Asimismo, lesiones específicas del NPBL interfieren en el desarrollo de preferencias gustativas inducidas por nutrientes predigeridos (Zafra et al., 2002).

Comparativamente, en el caso de la Autoestimulación Eléctrica Intracerebral, existen un buen número de estudios que han relacionado los efectos de la estimulación eléctrica con la ingesta alimenticia, sugiriendo que este efecto reforzante artificial probablemente supone la activación del sistema de recompensa endógeno que subyace a los reforzadores naturales (Wise & Rompré, 1989; Wise, 1996).

Es un hecho bien conocido que la estimulación eléctrica del hipotálamo lateral puede inducir conductas de ingesta en los animales (Carr & Simon, 1983; Carr et al., 1991; Carr, 1996). También se ha comprobado que un aumento en la motivación de los animales, por ejemplo mediante la privación alimentaria y/o el mantenimiento de un bajo peso corporal, potencia el efecto recompensante de la AEIC, produciendo un incremento en el ritmo de autoestimulación (Carr & Wolinsky, 1993; Carr & Papadouka, 1994; Wolinsky et al., 1994; 1996).

Los datos disponibles sugieren, además, que estos fenómenos pueden estar mediados por el sistema opiáceo (Carr et al., 1991; Ward & Simansky, 2006). Así, se ha demostrado que los antagonistas opiáceos, especialmente los del subtipo μ (administrados directamente en el complejo parabraquial) interfieren con las conductas de ingesta tanto espontáneas como inducidas mediante estimulación eléctrica (Carr et al., 1991; Ward & Simansky, 2006). También se ha comprobado que la potenciación del efecto recompensante de la AEIC (en animales privados de alimento) puede ser revertida mediante la administración de naloxona (Carr & Simón, 1983).

Más aún, la actividad opiácea μ generada en el complejo parabraquial ha sido relacionada más con el consumo de alimento estándar que con el consumo de alimento *palatable*, lo que sugiere una implicación en los mecanismos homeostáticos de la regulación alimenticia (Ward & Simansky, 2006). También se ha observado una implicación de la actividad opiácea κ en los procesos nutritivos (Arjune & Bodnar, 1990; Levine et al., 1990; Carr & Wolinsky, 1993), incluida la ingesta de productos *palatables/apetitivos* (Arjune & Bodnar, 1990).

En este contexto, investigaciones recientes sugieren que el sustrato neurobiológico activado mediante la AEIC podría coincidir también con el sustrato que subyace a la acción de diversas drogas de abuso (Wise, 1996; 2002; Kelley & Berridge, 2002). Se ha comprobado que la restricción calórica crónica ejerce efectos similares tanto sobre la AEIC como sobre las drogas de abuso, incrementando en ambos casos su efecto recompensante (De Vry, Donselaar & Van Ree, 1989; Carr & Wolinsky, 1993; Carr & Papadouka, 1994; Wolinsky et al., 1994; 1996; Carr, 2002). En ambos casos, también estos incrementos pueden ser bloqueados mediante la administración de antagonistas opiáceos (De Vry et al., 1989; Carr & Simon, 1983; Carr & Papadouka, 1994).

En esta misma línea, diversos autores han puesto de manifiesto que la administración de agonistas opiáceos y otras sustancias de abuso producen un efecto facilitador de las conductas instrumentales de AEIC (Van Wolfswinkel & Van Ree, 1985; Frank et al., 1992), salvo en el caso de los agonistas κ , que generan un efecto inhibitorio (Todtenkopf, Marcus, Portoghese & Carlezon, 2004). Por otra parte, este sistema opiáceo endógeno ha sido implicado además en la modulación de la liberación de dopamina tras el consumo de drogas de abuso incluso no opiáceas, como las anfetaminas o el etanol (Balcells-Olivero & Vezina, 1997; Gonzales & Weiss, 1998; He, Li & Grasing, 2004). Así, Steward y colaboradores han comprobado que en animales tratados crónicamente con anfetamina se observa una sensibilización a los efectos profágicos de los agonistas μ y κ (Nencini & Steward, 1990; Badiani & Steward, 1993). De hecho, la implicación específica del receptor opiáceo μ en el desarrollo de procesos adictivos es un hecho bien establecido (Cunningham & Kelley, 1992; Díaz, Pazos, Flórez & Hurlé, 2000; Bryant et al., 2005; Shoblock & Maidment, 2006), como veremos más adelante con mayor detenimiento.

Analizando conjuntamente los resultados de los experimentos 1 y 5, observamos que el efecto de la naloxona sobre la estimulación eléctrica del NPBL depende del comportamiento positivo o negativo evocado en el animal a través de dicha estimulación. Cuando la estimulación eléctrica resulta apetitiva, la administración de naloxona interrumpe la adquisición de preferencias por el lugar asociado a la estimulación (Experimento 5) mientras que en el caso de que la estimulación resulte aversiva, esta sustancia antagonista invierte este efecto negativo (Experimento 1). Estas conclusiones son compatibles con los resultados obtenidos por algunos estudios previos en otras regiones cerebrales prioritariamente recompensantes, como el hipotálamo lateral, o en áreas manifiestamente aversivas, como el área gris central, en las que la naloxona contrarresta el efecto de la estimulación eléctrica (Cazala & David, 1991). También las preferencias por un lugar inducidas por la morfina pueden ser bloqueadas mediante la administración de antagonistas opiáceos, tanto generales como la naltrexona, como selectivos a los receptores μ , como la beta-funaltrexamina (Piepponen et al., 1997; Powell et al., 2002; Olmstead & Burns, 2005; Wang et al., 2005; Guo, García, Taylor, Zadina & Harlan, 2008). Por su parte, el desarrollo de aversiones hacia un lugar, que ha sido relacionado con la abstinencia opiácea, también puede verse interrumpido mediante la administración de antagonistas opiáceos (Powell et al., 2002; Olmstead & Burns, 2005; Wang et al., 2005).

Por su parte, los resultados obtenidos en el Experimento 4 demuestran que la administración sistémica de tiapride, un antagonista dopaminérgico D2/D3, no impide la adquisición de preferencias por un lugar inducidas mediante la estimulación eléctrica del NPBL. Sin embargo, en este mismo experimento se reproduce, al igual que en los Experimentos 2 y 3, que el tiapride bloquea la adquisición de aversiones hacia un lugar inducidas mediante estimulación eléctrica del NPBL.

Los resultados del Experimento 4 contrastan con las conclusiones obtenidas por otros autores. Así, Fouriezos y Wise (1976) logran bloquear con pimozida (un antagonista dopaminérgico) la conducta de autoestimulación eléctrica inducida en el hipotálamo lateral. De conformidad con las distintas propuestas ofrecidas con respecto a las funciones de la dopamina en el procesamiento de la conducta motivada (Chiodo et al., 1980; Salamone, 1992; 1994; Salamone et al., 1997; Berridge, 2003; Phillips, 2003; Robinson & Berridge, 2003; Robinson et al., 2005), se podría hipotetizar que la repercusión del bloqueo del componente de incentivo o de reacción de la motivación, mediante antagonistas dopaminérgicos, podría depender en gran medida del hecho de que las tareas requieran un mayor o menor grado de conductas de

ejecución. En el caso concreto del estudio de Fouriezos y Wise (1976) se emplearon tareas exclusivamente instrumentales.

En otras palabras, la dopamina podría adquirir una mayor relevancia cuando la estimulación eléctrica intracerebral se proporciona de manera contingente a la conducta del animal, y no en los casos en los que la estimulación se efectúa con tareas que no incluyen un alto nivel de contingencia.

La posibilidad de diferenciar las tareas experimentales en función del grado de contingencia de la estimulación eléctrica con respecto al comportamiento del animal y, por lo tanto, según el control que éste tiene sobre la aplicación o no de la estimulación, merece especial atención. Según este planteamiento, la AEIC sería el prototipo conductual más contingente, ya que los animales sólo reciben estimulación eléctrica cuando presionan una palanca, y al dejar de presionarla, la estimulación cesa. El caso del aprendizaje concurrente utilizado en esta Tesis puede representar un grado intermedio de contingencia, control y ejecución: ahora, el animal puede deambular libremente por los compartimentos del laberinto, y el recibir estimulación o no depende en cada momento de su localización dentro del laberinto. En esta prueba, el animal puede permanecer pasivo en el compartimento asociado a la estimulación, sin realizar ninguna actividad, y en esta situación puede recibir estimulación eléctrica indefinidamente y sin otra acción ejecutora por su parte.

Las hipótesis que atribuyen a la dopamina un papel decisivo en el *arousal* conductual, más que en la valoración hedónica en sí misma (Chiodo et al., 1980; Salamone, 1992; 2009; Smith et al., 2002; Berridge, 2003), pueden ser también adecuadas para explicar los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral. En efecto, estas propuestas otorgan al sistema dopaminérgico un papel clave en la activación que se produce habitualmente en los animales cuando son expuestos a estímulos motivacionales y que así facilita su reacción para aproximarse o evitar los estímulos. Esta función estaría relacionada en mayor medida con conductas preparatorias que con conductas consumatorias propiamente dichas (Chiodo et al., 1980; Salamone, 1992; 1994). Las tareas propuestas en esta Tesis no requieren de grandes esfuerzos por parte de los animales, ya que la recompensa puede obtenerse permaneciendo casi espontáneamente en el compartimento del laberinto asociado a estimulación. Probablemente, aunque los fármacos neurolépticos puedan reducir el *arousal* motivacional, no interferirán en el comportamiento del animal, ya que la tarea no requiere grandes exigencias para obtener la recompensa deseada.

En cualquier caso, algunos de los datos experimentales publicados hasta ahora pueden resultar contradictorios con la propuesta anterior. Este sería el caso de ciertos estudios en los que se ha observado una escasa liberación de DA tras la administración de estímulos aversivos (Mirenowicz & Schultz, 1996). Resultados similares se han producido con respecto a la actividad dopaminérgica tónica tras administrar autoestimulación eléctrica recompensante predecible y no predecible (Hernández et al., 2006; 2007; 2008; 2009). Mientras que los resultados del estudio de Mirenowicz & Shultz (1996) podrían explicarse en función de la escasa severidad de los estímulos aversivos utilizados (administración de un soplo de aire en una de las patas o de suero salino hipertónico, de baja concentración, en la cavidad oral), los resultados obtenidos por Hernández y colaboradores (2006; 2007) podrían ser compatibles con el esquema propuesto anteriormente ya que ponen de manifiesto el efecto diferencial que tiene la predictibilidad de la recompensa sobre la liberación dopaminérgica en el núcleo accumbens (Hernández et al., 2006). En este sentido, existe el convencimiento de que la actividad dopaminérgica fásica parece ser crucial en el aprendizaje de tareas operantes (Ljungberg et al., 1992; Garris et al., 1999; Kilpatrick et al., 2000; Schultz, 2002), así como en la iniciación de una conducta (Phillips, Stuber, Helen, Wightman & Carelli, 2003; Roitman et al., 2004a) o en las expectativas de recompensa (Mirenowicz & Schultz, 1994; Tobler et al., 2005). Por otra parte, los cambios a largo plazo en el tono dopaminérgico podrían estar relacionados con el *arousal* necesario para ejecutar una acción y, por lo tanto, con la vigorización del comportamiento (Salamone et al., 1997; 2003; Salamone, 2002) así como en la modulación del circuito que computa la “saliencia” incentiva de los estímulos (Blackburn et al., 1992; Smith et al., 2002).

La administración crónica de drogas de abuso como la morfina y la cocaína que, por otra parte, implican la activación del complejo parabraquial (Grabus et al., 2004), ha sido relacionada con los receptores dopaminérgicos D1 y D2 (Edwards et al., 2007), y especialmente con los receptores D3 en los casos en los que se produce una acción de búsqueda de la droga en cuestión, de tanta importancia en el desarrollo de las “recaídas” (See, Kruzich & Grimm, 2001; Vorel et al., 2002). Asimismo, se ha propuesto que la recompensa opiácea parece implicar mecanismos dopaminérgicos en diversas estructuras límbicas, como la amígdala central, el hipocampo dorsal o el núcleo estriado (Deslandes, Pache, Buckland & Sewell, 2002; Rezayof, Zarrindast, Sahraei & Haeri-Rohani, 2002; 2003). Igualmente, se ha comprobado que la administración de quinpirole, un agonista dopaminérgico D2/D3, potencia la preferencia por un lugar inducida con morfina (Deslandes et al., 2002; Rezayof et al., 2002; 2003). En sentido opuesto, se ha comprobado que los antagonistas dopaminérgicos suelen atenuar la recompensa

producida por la cocaína (See, Kruzich & Grimm, 2001; Vorel et al., 2002), la anfetamina (MacKey & Van der Kooy, 1985; Trujillo et al., 1991) y la nicotina (Le Foll, Sokoloff, Stark & Goldberg, 2005) en tareas de condicionamiento de preferencias por un lugar. Sin embargo, los neurolépticos no siempre bloquean las preferencias inducidas por la morfina, la heroína o algunos estímulos condicionados (MacKey & Van der Kooy, 1985; Nader, Bechara, Roberts & Van der Kooy, 1994; McFarland & Ettenberg, 1999; Laviolette et al., 2002), y por ello se ha propuesto que la recompensa opiácea, a diferencia de otras drogas adictivas, podría no requerir de la liberación de dopamina a través del sistema mesolímbico (Koob, 1992; Olsmted & Franklin, 1996; Nader & Van der Kooy, 1997; Hnasko, Sotak & Palmiter, 2005). De alguna manera, las acciones reforzantes de los opiáceos podrían ser tanto DA-dependientes como DA-independientes. Así, no se ha observado relación entre la capacidad reforzante de la heroína (medida a través de tareas de autoadministración) y los cambios que su administración provoca en la actividad dopaminérgica del núcleo accumbens (Caillé & Parsons, 2003; Koob & LeMoal, 2006).

Finalmente, y de manera similar a los resultados obtenidos en el Experimento 4, se ha demostrado que la administración de antagonistas dopaminérgicos puede bloquear las propiedades aversivas, pero no las apetitivas, de las inyecciones de nicotina en el área tegmental ventral (Laviolette & Van der Kooy, 2003). De hecho, en este estudio se concluye que el bloqueo de la dopamina mesolímbica se relaciona con una sensibilización a los efectos reforzantes de la nicotina (Laviolette & Van der Kooy, 2003), aunque no todos los estudios coinciden en este punto. Concretamente, Le Foll y colaboradores (2005) bloquearon la recompensa inducida por la nicotina mediante la administración de fármacos neurolépticos. Es posible que algunas de las diferencias encontradas entre estos dos estudios puedan ser explicadas en función del neuroléptico utilizado, α -flupentixol, en unos casos, que sí bloquea la recompensa nicotínica (Le Foll et al., 2005) y ST 198, un antagonista selectivo de los receptores D3, que por el contrario facilita dicho efecto reforzante (Laviolette & Van der Kooy, 2003).

En resumen, los resultados obtenidos en los Experimentos 4 y 5, y en los que la estimulación eléctrica del NPBL genera conductas de preferencia, sugieren que este subnúcleo pontino podría estar formando parte de alguno de los sistemas de recompensa cerebrales de índole opiácea. La presencia de receptores opiáceos tanto μ como κ en el complejo parabraquial (Quirion et al., 1983; Lynch et al., 1985; Mansour et al., 1994; 1995; Wolinsky et al., 1994; 1996; Ding et al., 1996; Chamberlin et al., 1999) podría explicar inicialmente los resultados del

Experimento 5, ya que el sistema de recompensa activado mediante la estimulación eléctrica del NPBL podría implicar sistemas opiáceos endógenos, que por otra parte también han sido relacionados con procesos motivacionales nutritivos (Edwards & Ritter, 1989; Ritter, 1994; Ritter et al., 1994; Yamamoto et al., 1994a; Horn & Friedman, 1998; Wang et al., 1999b; Reilly & Trifunovic, 2000a; 2000b; Yamamoto & Sawa, 2000ab; 2000b) y con el propio consumo de sustancias de abuso (De Vry et al., 1989; Nencini & Steward, 1990; Cunningham & Kelley, 1992; Badiani & Steward, 1993; Díaz et al., 2000; Bryant et al., 2005; Shoblock & Maidment, 2006). Los resultados del Experimento 4 sugieren, sin embargo, que el sistema dopaminérgico D2/D3 no formaría parte de este sistema de recompensa cerebral concreto, ya que la administración de antagonistas dopaminérgicos no impide el desarrollo de preferencias por el lugar asociado a la estimulación eléctrica del NPBL. Este último resultado es compatible con estudios que han demostrado que las preferencias por el lugar inducidas mediante agonistas opiáceos no siempre son bloqueadas mediante la administración de fármacos neurolépticos (MacKey & Van der Kooy, 1985; Nader et al., 1994; McFarland & Ettenberg, 1999).

Los resultados del Experimento 6 revelan que el efecto de preferencia por un lugar inducida mediante estimulación eléctrica del NPBL también puede obtenerse en pruebas de Condicionamiento a un Lugar de índole secuencial. Por el contrario, en este estudio no se produce aversión condicionada hacia un lugar tras la estimulación de este mismo subnúcleo parabraquial, algo que sí se produjo utilizando procedimientos concurrentes.

A través del laberinto rectangular es posible llevar a cabo las dos modalidades de Condicionamiento de un Lugar, concurrente y secuencial, de manera similar a lo establecido en el Aprendizaje Aversivo Gustativo (Arnedo et al., 1990; 1993; Gallo et al., 1990; 1991; Agüero et al., 1993b; 1997; Mediavilla et al., 2001; 2005; Zafra et al., 2002; De la Torre & Agüero, 2008). En el caso del aprendizaje secuencial, el animal es confinado, en días alternos, en uno de los dos compartimentos del laberinto, asociando ese entorno estimular a unas consecuencias (por ejemplo, estimulación eléctrica intracerebral). En las restantes sesiones, el animal ocupa el otro compartimento donde recibe un tratamiento control (no estimulación). En una última sesión de elección, el animal escoge con total libertad entre los dos compartimentos. El procedimiento utilizado en los experimentos precedentes de esta Tesis Doctoral sigue la modalidad

concurrente, en la cual los animales pueden desplazarse y ocupar libremente las dos zonas estimulables del laberinto rectangular a lo largo de cada una de las sesiones de condicionamiento. El animal puede permanecer, por ejemplo, en el compartimiento A donde recibirá la estimulación eléctrica intracerebral pertinente, mientras que, por el contrario, si se traslada al compartimiento B, dicha estimulación eléctrica no se producirá. En el ámbito del Aprendizaje Aversivo Gustativo, se ha demostrado que la modalidad de aprendizaje secuencial reúne los requisitos característicos de los aprendizajes explícitos (Mediavilla et al., 2005), por ejemplo, en lo referente a flexibilidad, demora inter-estimular y número de ensayos de aprendizaje necesarios para su adquisición (Mediavilla et al., 2001). Durante el aprendizaje gustativo secuencial es, a veces, suficiente un solo ensayo para la adquisición de la tarea, además de tratarse de un aprendizaje que permite mantener y utilizar la información adquirida para resolver tareas en las que se introducen notables modificaciones con respecto a la situación estimular aprendida (test de inversión). Las modalidades concurrentes, por el contrario, requieren contigüidad inter-estimular, un mayor número de ensayos de aprendizaje, al tiempo que ahora los animales muestran una incapacidad para transferir el aprendizaje adquirido a situaciones en las que los parámetros estimulables han sido modificados (rigidez, inflexibilidad).

Para muchos autores, las respuestas de aproximación condicionadas clásicamente parecen constituir un componente central del estado de adicción a las drogas de abuso (Kenny, 2007; Tomie et al., 2002; Everitt & Robbins, 2005). Sin embargo, estas propuestas no están exentas de controversia. Así, Kearns y Weiss (2004) han realizado un estudio en el que al menos cuando se utiliza cocaína como estímulo incondicionado en un paradigma de automoldeamiento, y a diferencia de la sacarosa, esta droga de abuso no era capaz de promover respuestas de acercamiento a los estímulos que predecían su administración. No obstante, es posible que las diferencias encontradas entre la administración de cocaína y sacarosa puedan ser debidas a variables como la temporalización de su administración, ya que la cocaína era administrada directamente en la vena yugular, mientras que el consumo del alimento requería que los animales llevaran a cabo una conducta de ingesta. De hecho, otros estudios han demostrado que la combinación de etanol-sacarina e incluso la morfina por sí misma pueden sustentar respuestas de aproximación a predictores espaciales (Spiteri et al., 2000; Krank, 2003).

Las conductas de aproximación, según criterios pavlovianos, han sido incluidas entre las funciones del núcleo accumbens (Day, Wheeler, Roitman & Carelli, 2006), estructura anatómica habitualmente implicada en los estudios sobre drogadicción (por ejemplo, Layer, Uretsky & Wallace, 1993; Carelli et al., 2000; Caillé et al., 2007; Ambrose-Lanci et al., 2008). Para ello,

Carelli y asociados examinaron la actividad de neuronas individuales del núcleo accumbens durante un paradigma de automoldeamiento inducido por sacarosa. El 75% de las células registradas mostraban incrementos y/o reducciones en su tasa de actividad ante la presentación del pedal asociado a la sacarosa y la correspondiente conducta de aproximación. La subpoblación excitatoria (compuesta por las neuronas que mostraban incrementos en su tasa de actividad ante la palanca condicionada) también mostró incrementos en su actividad, aunque más moderados, al presentar la palanca no asociada a la recompensa. Por su parte, la subpoblación inhibitoria no mostró ningún cambio en estas condiciones. Los autores interpretan estos resultados en el sentido de que el núcleo accumbens procesa las conductas de aproximación repetitivas y biológicamente relevantes (Day et al., 2006), y cuya alteración podría quizá explicar la naturaleza compulsiva de la drogadicción humana.

Durante el condicionamiento secuencial, el animal tiene la oportunidad de asociar las claves del lugar con las consecuencias motivacionales resultantes de la estimulación conforme a los principios básicos del condicionamiento clásico, esto es, mientras el animal queda confinado en uno de los compartimentos del laberinto durante este proceso de adquisición. Sin embargo, la ejecución que se realiza en la fase de elección del experimento, requiere del animal una cierta flexibilidad. En otras palabras, aunque durante la fase de adquisición, el animal está confinado en una zona u otra, sin acceso al resto del laberinto, durante la prueba, el animal es situado en la zona central del mismo, pudiendo ahora percibir el laberinto completo en una nueva perspectiva y pudiendo deambular libremente por cualquier zona. Es decir, las circunstancias en las que el animal aprende y las circunstancias en las que recuerda lo aprendido son completamente diferentes y, sin embargo, el animal elige acertadamente, mostrando una flexibilidad conductual no compatible con un aprendizaje implícito en sentido estricto (Lee & Vakoch, 1996; Cañas, Quesada & Antolí, 1999). Estas observaciones podrían ser compatibles con un planteamiento en el cual, en el momento de la prueba, se produciría una transferencia del aprendizaje clásico a un aprendizaje de tipo instrumental (Corbit & Balleine, 2005; Corbit & Janak, 2007a; 2007b; Corbit, Janak & Balleine, 2007) o también, alternativamente, a otro de tipo explícito. Podría proponerse que durante la fase de adquisición se ha producido un aprendizaje explícito inadvertido, o incluso varios aprendizajes en paralelo, de modo que el animal accede a uno u otro en función de las demandas específicas de la tarea. Como Tolman demostró, los animales pueden aprender hechos acerca del mundo y usar estos conocimientos de manera flexible cuando las circunstancias así lo requieran (Tolman & Honzik, 1930a; 1930b; Tolman, Ritchie & Kalish,

1946a; 1946b; 1947a; 1947b; Ritchie, 1947; Tolman & Gleitman, 1949). Se demostró, por ejemplo, que los animales saciados que habían explorado un laberinto que contenía comida, fueron capaces de recorrerlo correctamente en el primer intento cuando se les ofrecía la posibilidad de hacerlo estando hambrientos (Tolman, Ritchie & Kalish, 1946a).

Estos resultados sugieren que, entre las modalidades de aprendizaje que subyacen a las conductas adictivas, debe incluirse con mucha probabilidad el Condicionamiento Clásico y las subsiguientes respuestas de aproximación. Sin embargo, es posible que el Condicionamiento Clásico por sí mismo no pueda explicar la totalidad del fenómeno de la drogadicción, sobre todo teniendo en cuenta el elevado número de conductas instrumentales, e incluso de tipo explícito, que lo pueden constituir, y que hace que no pueda descartarse la implicación de otros tipos de aprendizaje en las conductas adictivas.

En el Experimento 6 se han podido inducir preferencias por un lugar mediante estimulación eléctrica del NPBL con condiciones procedimentales similares a las que han utilizado otros investigadores para inducir preferencias mediante la administración de reforzadores naturales (Spyraki et al., 1982; Bechara et al., 1992; Delamater et al., 2000; Spiteri et al., 2000; Papp et al., 2002; Duarte et al., 2003), o sustancias de abuso opiáceas (Spyraki et al., 1983; MacKey & Van der Kooy, 1985; MacKey, Sèller & Van der Kooy, 1986; Leone & Di Chiara, 1987; Suzuki & Misawa, 1995; Olmstead & Franklin, 1996; Maldonado et al., 1997; Xu, Wang, Wu & Pei, 2001; Rezayof et al., 2002; 2003; Zarrindast et al., 2003; Milekic, Brown, Castellini & Alberini, 2006) y no opiáceas (MacKey & Van der Kooy, 1985; Leone & Di Chiara, 1987; Bilsky et al., 1990; Trujillo, Belluzzi & Stein, 1991; Masukawa et al., 1993; Kaddis et al., 1995; Suzuki & Misawa, 1995; Olmstead & Franklin, 1996; Kuzmin et al., 1997; Schildein et al., 1998; Zarrindast et al., 2003; Baunez et al., 2005; Walker & Ettenberg, 2007), un paralelismo que merece ser estudiado en el futuro.

Los Experimentos 7 y 8 han examinado los efectos de la estimulación eléctrica repetida del NPBL y de la Corteza Insular Agranular Posterior en una tarea de Condicionamiento por un Lugar. Concretamente, en estos experimentos, se ha variado el número de sesiones con estimulación (un grupo realizó el doble de ensayos que el otro) y se han determinado las consecuencias que puede ejercer sobre las preferencias establecidas por un lugar.

Los resultados del Experimento 7 muestran que una vez que la estimulación eléctrica del NPBL e ha inducido preferencias por un lugar, la persistencia del efecto reforzante parece depender del número de ensayos recibidos con estimulación eléctrica. En este experimento se demuestra que la activación parabraquial diaria da lugar a una reducción de su efecto reforzante, que se manifiesta, a nivel conductual, en el hecho de que los animales reducen el tiempo de permanencia en la zona estimulada (Grupo Positivo 1). Por el contrario, cuando la estimulación del NPBL e se lleva a cabo en días alternos (reduciendo a la mitad el número de ensayos de estimulación), los animales mantienen consistentemente su preferencia por el lugar asociado a la estimulación (Grupo Positivo 2). Este novedoso efecto de la estimulación eléctrica repetitiva del NPBL e parece coincidir con una de las definiciones propuestas para el proceso de tolerancia, a saber, un descenso en la respuesta emitida ante una misma dosis de una sustancia adictiva administrada repetidamente (Taylor & Fleming, 2001; Vetulani, 2001; Koob & LeMoal, 2006).

Resultados similares se producen cuando la región activada eléctricamente es la Corteza Insular Agranular Posterior (Experimento 8). Los resultados de este experimento demuestran también que la preferencia por un lugar inducida por la estimulación eléctrica intracerebral de la Corteza Insular varía en función del número de ensayos a los que el animal es sometido. Así, cuando la estimulación eléctrica es administrada diariamente se produce una reducción en el efecto reforzante (Grupo Positivo 1), cosa que no sucede en el caso de que los ensayos de estimulación se lleven a cabo en días alternos - reducidos a la mitad -, una situación experimental en la cual los animales mantienen una robusta preferencia por el lugar estimulado (Grupo Positivo 2). Esta disminución del efecto reforzante de la estimulación eléctrica tiene carácter reversible, ya que al incrementar la intensidad de la corriente eléctrica en un 20% (última fase del Experimento 8), el Grupo Positivo 1 vuelve a recuperar el efecto reforzante de la estimulación, mostrando de nuevo una clara preferencia por el lugar asociado a la estimulación. Este aumento producido en las nuevas condiciones de estimulación no incrementa, sin embargo, el efecto reforzante mostrado por el Grupo Positivo 2. Este efecto de recuperación, por su parte, sería compatible con el segundo criterio de tolerancia, a saber, la utilización de dosis progresivamente crecientes permite reproducir y recuperar el efecto recompensante inicial (Taylor & Fleming, 2001; Vetulani, 2001; Koob & LeMoal, 2006).

Comparativamente, esta reducción en la eficacia de la estimulación eléctrica reforzante producida durante el condicionamiento de preferencia por un lugar no se produce en las tareas operantes características de la AEIC. En ellas, los animales mantienen persistentemente la conducta instrumental destinada a la autoadministración de estimulación eléctrica, sin que se

observen manifestaciones comportamentales que sugieran una reducción en su efecto recompensante (Olds, 1958; Wise & Rompré, 1989). Por otra parte, la ausencia de conductas de AEIC en el NPBL e y la Corteza Insular Agranular Posterior (Cubero & Puerto, 2000; Simón et al., 2009; García, 2009), sugiere que el efecto reforzante inducido por la activación de estas regiones puede representar un hecho funcional diferencial con respecto a los datos y modelos propuestos para el caso de la activación de un circuito general de refuerzo que sustenta las conductas de autoestimulación (McGregor & Atrens, 1991).

Los resultados obtenidos en los Experimentos 7 y 8 mediante estimulación eléctrica de zonas reforzantes del Sistema Nervioso Central son compatibles, por otra parte, con los datos aportados por otras investigaciones dentro del contexto de las sustancias de abuso y la drogadicción. En ellos, se ha demostrado que la administración repetida de algunas sustancias, como la morfina o los psicoestimulantes, puede generar tolerancia en algunas de sus manifestaciones. Así, por ejemplo, las drogas opiáceas, consumidas repetidamente van reduciendo progresivamente su eficacia reforzante, lo cual suele provocar consecuentemente un incremento en la cantidad consumida, algo que ha sido confirmado de manera dramática en roedores (Bozarth & Wise, 1985; Martin et al., 2006).

Más aún, Winger y Woods (2001) han demostrado que la administración crónica de morfina u otros agonistas opiáceos provoca un descenso en la respuesta reforzante de diversas drogas opiáceas, como la propia morfina o la heroína (Sosnowski & Yaksh, 1990; Duttaroy & Yoburn, 1995).

Incluso en mayor medida que en el caso de la morfina, el consumo repetido de cannabinoides produce en los seres humanos un marcado descenso en sus efectos recompensantes, lo cual lleva, de algún modo, al consumo de dosis cada vez mayores a fin de conseguir el efecto deseado (Haney et al., 1999; Hart et al., 2002).

Existen una gran variedad de factores que teóricamente pueden contribuir en mayor o menor medida al desarrollo del proceso de tolerancia. Entre ellos, se podría destacar el programa de administración que en el caso de la morfina puede ser responsable, al menos parcialmente, de la presencia y desarrollo de tolerancia o sensibilización. La tolerancia analgésica, por ejemplo, se promueve mediante una exposición intensa a la morfina (Duttaroy & Yoburn, 1995; Eitan et al., 2003), mientras que la inducción de sensibilización de la actividad

locomotora, requiere del uso de intervalos interdosis relativamente largos (Kuribara, 1996; Vanderschuren et al., 1997). Más concretamente, se ha comprobado que un intervalo interdosis de 12 horas no induce ni tolerancia ni sensibilización de los efectos locomotores de la morfina, mientras que otro de 72 horas es suficiente para inducir sensibilización (Kuribara, 1996). Indudablemente, estos intervalos pueden estar en función del tratamiento recibido y de cada prueba comportamental, pero que en el caso de los Grupos Positivo 1 de ambos experimentos, 7 y 8, la estimulación administrada fue más frecuente (cada 24 horas) que en los Grupos Positivo 2 (cada 48 horas), un factor que podría sugerir que un intervalo interdosis menor (en los Grupos Positivos 1) puede haber facilitado la reducción de su efecto reforzante.

En cualquier caso y de un modo general, se ha demostrado que el uso de sustancias de abuso siguiendo patrón continuo, favorece el desarrollo de tolerancia en el caso de la analgesia y el refuerzo, mientras que la administración discontinua o intermitente, suele estar relacionada, en mayor medida, con el desarrollo de sensibilización (Frank et al., 1992; Kreek & Koob, 1998; Viganò et al., 2003; Hyman et al., 2006; Koob & LeMoal, 2006).

En otro orden de cosas, muchos autores han destacado el papel clave que los procesos de aprendizaje pueden tener en el desarrollo de la tolerancia. Así, según la propuesta de Siegel, en la tolerancia opiácea siempre subyace una respuesta compensatoria opuesta al efecto de la droga, una respuesta que se adquiere y extingue de acuerdo a los principios del condicionamiento clásico (Siegel, 1999; Siegel et al., 2000; Siegel & Ramos, 2002). Este factor ha podido contribuir a los resultados obtenidos en los experimentos 7 y 8, ya que los Grupos Positivo 1 recibían la activación intracerebral el doble de veces que los animales pertenecientes a los Grupos Positivo 2 mientras permanecían confinados en el compartimento del laberinto asociado a la estimulación. Las claves contextuales propias de dicho compartimento podrían haber adquirido así un valor incrementado como estímulos condicionados y, así, propiciar la aparición de respuestas compensatorias. De manera similar, se ha comprobado que también la sensibilización de la respuesta locomotora inducida mediante morfina puede verse altamente potenciada tras una asociación contingente con claves ambientales distintivas (Badiani et al., 2000; Vekovischeva et al., 2001; Paolone et al., 2003).

Además, otros procesos de aprendizaje, como la habituación, también pueden participar en la tolerancia analgésica inducida mediante opiáceos (Tiffany et al., 1992; Cox & Tiffany, 1997). Concretamente, la tolerancia asociativa predomina con intervalos interdosis largos (96

horas), mientras que la tolerancia a intervalos cortos (6 horas) no parece muy influenciada por las contingencias contextuales.

En cualquier caso, los mecanismos subyacentes al proceso de tolerancia opiácea están lejos de ser bien comprendidos. La mayoría de los cambios biológicos que se han propuesto para explicar la tolerancia opiácea implicarían una disminución de la actividad de los receptores opiáceos. Entre estas neuroadaptaciones se incluirían una disminución de los receptores opiáceos, la internalización o densidad alterada de los mismos, un contenido de proteína G alterado – por ejemplo, diferentes proporciones entre los subtipos de proteína G -, o una síntesis incrementada del adenilato ciclasa (Rivera & Gintzler, 1998; Turchan et al., 1999; Bohn et al., 2000; Eckhardt et al., 2000; Gintzler & Chackrabarti, 2006), si bien algunos resultados recientes ponen en duda que estos mecanismos puedan dar cuenta de la tolerancia opiácea en su totalidad (Gintzler & Chackrabarti, 2006; Contet et al., 2008). Concretamente, Contet y colaboradores (2008), al examinar el cerebro de roedores que habían desarrollado tolerancia a los efectos analgésicos de la morfina (y otros índices de adicción), concluyen que las neuroadaptaciones descritas más arriba no estaban presentes en el sistema límbico de estos animales.

Quizá los resultados del Experimento 7 también puedan ponerse en relación con el denominado “*Modelo de los dos estados del receptor opiáceo μ* ”, que propone un equilibrio inicial entre los receptores activos e inactivos, un equilibrio que, sin embargo, puede ser alterado a través de la administración de ligandos (Cruz, Villarreal & Volkow, 1996; Wang et al., 1994). En este modelo, los agonistas μ promueven el estado activo de los receptores, mientras que los agonistas inversos favorecen el estado inactivo y, finalmente, los antagonistas por su parte, si bien no perturban el equilibrio, interfieren en las sinapsis de los agonistas y/o los agonistas inversos (ver figura 43). Es decir, este modelo predice que tras la administración repetida de agonistas, la mayoría de los receptores pasarán a estar en estado activo, de manera que una administración adicional de agonistas ejercería un efecto mínimo, mientras que un agonista inverso puede ser muy efectivo (ya que el cambio de estado sería notable, puesto que la mayoría de los receptores μ estarían activos en estas circunstancias). Alternativamente, si la mayoría de los receptores están inactivos, los agonistas serían muy efectivos (provocarían que los receptores de inactivos pasen a un estado de actividad) mientras que los agonistas inversos pueden ser inefectivos (los cambios de estado activo a inactivo será pequeño, ya que la mayoría de los receptores están, de hecho, inactivos). De acuerdo con todo ello, el que un ligando actúe como agonista parcial, antagonista neutral o agonista inverso parece depender del contexto celular, de

las condiciones de incubación in vitro, y del estado de dependencia narcótica (Wang et al., 2004).

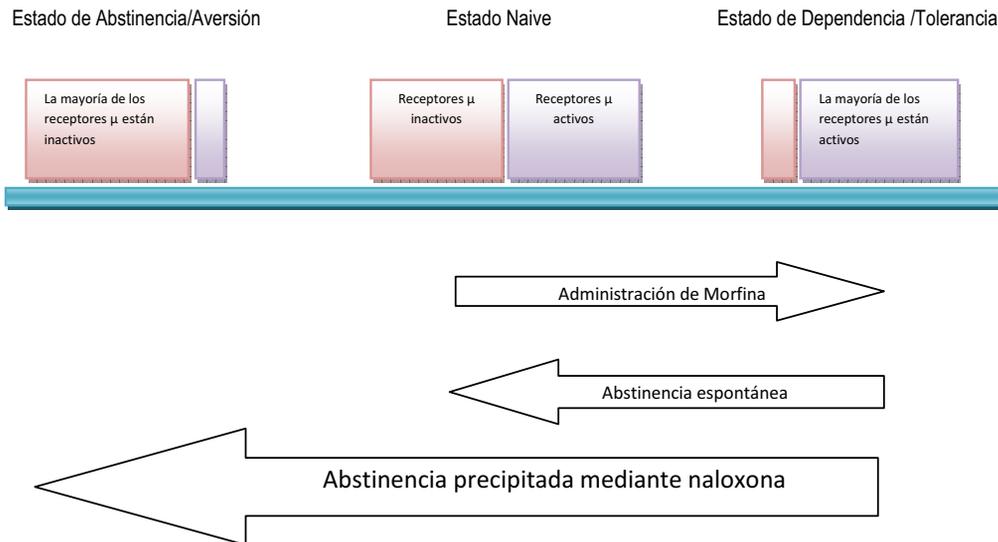


Figura 43. Representación gráfica del modelo de los dos estados del receptor opiáceo μ . Figura adaptada de Cruz y colaboradores (1996).

En esta línea, se ha comprobado que los receptores opiáceos μ , considerados como los principales mediadores en los efectos analgésicos y adictivos de los opiáceos (Matthes et al., 1996), mantienen una cierta actividad basal, es decir, están endógenamente activos sin necesidad de la presencia de ligandos (Wang et al., 1994). Sin embargo, esta actividad basal puede ser regulada mediante un pretratamiento con morfina, algo que da lugar a, al menos, dos cambios significativos en las propiedades de los receptores y los ligandos. En primer lugar, la morfina aumenta la actividad basal de los receptores μ (Wang et al., 1994; 2000; 2004; Liu & Prather, 2001; Shoblock & Maidment, 2006), haciendo que persista la actividad basal incrementada durante prolongados periodos de tiempo (Wang et al., 2004). Por otra parte, este pretratamiento con morfina puede afectar a las propiedades antagonistas de la naloxona y la naltrexona. Así, la naloxona y la naltrexona por sí solas producen poco efecto en los tejidos de las células que no han sido tratadas, actuando como antagonistas neutrales. Sin embargo, en las

células pretratadas con morfina, estos fármacos exhiben efectos agonistas inversos que suprimen la actividad basal μ (Wang et al., 1994; Cruz et al., 1996; Liu & Prather, 2001).

En este contexto, podría proponerse que la estimulación eléctrica del NPBL puede haber ejercido sobre los receptores opiáceos μ un efecto semejante al producido por la administración crónica de agonistas opiáceos, es decir, un incremento en su actividad basal, característico del estado de dependencia narcótica (Wang et al., 1994; 2000; 2004; Liu & Prather, 2001; Shoblock & Maidment, 2006). En esta situación, la mayoría de los receptores μ estaría activos, por lo que la administración de agonistas opiáceos (o de más estimulación eléctrica) apenas provocaría cambios en dichos receptores y, por lo tanto, tampoco podría generar un efecto reforzante potente.

Los resultados obtenidos en el Experimento 8, en la Corteza Insular Agranular Posterior, también parecen compartir ciertas características con la tolerancia producida con el consumo de sustancias de abuso. Estos datos podrían tener relación, de algún modo, con resultados recientes que relacionan a esta región anatómica con las funciones emocionales relacionadas con los procesos adictivos (Breiter et al., 1997; Wang et al., 1999a; Sell et al., 2000; Palchadhuri & Flügge, 2005; Contreras et al., 2007; Naqvi et al., 2007). Así, Bechara y su grupo han mostrado el caso de pacientes fumadores que han sufrido lesiones de la ínsula, y que han perdido el ansia y la necesidad de fumar, lo cual ha facilitado la desintoxicación sin que se produzcan recaídas. De hecho, algunos de estos pacientes con daño en la ínsula manifiestan que han dejado de fumar porque su cuerpo “se ha olvidado de fumar” (Naqvi et al., 2007).

En resumen, el capítulo IV de esta Tesis demuestra que el efecto reforzante inducido mediante la estimulación eléctrica del NPBL (Experimento 7) y de la Corteza Insular Agranular Posterior (Experimento 8) puede verse reducido de acuerdo con el número de sesiones de activación eléctrica que reciben los animales. Concretamente, mientras la estimulación eléctrica intracerebral diaria provoca una disminución en el efecto reforzante de la estimulación, manifestado a nivel conductual en una reducción del tiempo de permanencia en la zona estimulada (Grupos Positivo 1), la estimulación eléctrica en días alternos (reduciendo así el número de ensayos de estimulación a la mitad) permite la persistencia del refuerzo, tal y como se demuestra a través de una consistente preferencia por el lugar asociado a la estimulación (Grupos Positivo 2). Como se sugiere más arriba, estos resultados recuerdan de algún modo el caso de la administración repetida de fármacos opiáceos, unas sustancias inductoras de

tolerancia particularmente en sus componentes reforzantes, analgésicos y sedativos (Célèrier et al., 2001; Winger & Woods, 2001; Simonnet & Rivat, 2003; Koob & LeMoal, 2006).

Para terminar, conviene destacar el hecho de que los denominados Grupos Positivo 1 de los Experimentos 7 y 8 de esta Tesis, reciben estimulación eléctrica en días alternos de manera no contingente al comportamiento mientras los animales permanecen confinados en la zona correspondiente del laberinto, asegurando así que todos ellos reciben estimulación durante el mismo periodo de tiempo. En los restantes días alternos, por el contrario, con ensayos de condicionamiento de preferencia por un lugar según la modalidad concurrente, los Grupos Positivo 1 y Positivo 2 reciben la estimulación eléctrica de manera contingente a su estancia voluntaria en el compartimento del laberinto asociado a la estimulación. Es decir, mientras los Grupos Positivo 2 solamente reciben estimulación de manera contingente a su conducta, esto es, la recepción o no de estimulación eléctrica depende de su conducta; los Grupos Positivo 1 reciben, en días alternos, la estimulación eléctrica intracerebral según las dos modalidades, contingente y no contingente. En estos últimos grupos la administración o no de la estimulación no siempre depende de su comportamiento. El examen de la potencial relevancia de esta variable (administración contingente / no contingente) para explicar las diferencias observadas entre los grupos positivos en estos experimentos ha sido el objetivo del noveno y último Experimento de esta Tesis.

Los resultados del Experimento 9 demuestran que la modalidad de administración de la estimulación eléctrica es una variable determinante en la reducción (o no) del efecto recompensante de la activación del NPBL. Los resultados de este experimento revelan que sólo en el caso de que la administración de la estimulación eléctrica sea pasiva e independiente de la conducta del animal (es decir, no contingente), se desarrolla tolerancia/habitación a sus efectos reforzantes.

Con anterioridad, Steiner y colaboradores (1969) habían demostrado que los roedores suelen mostrar conductas de escape en respuesta a la estimulación eléctrica del hipotálamo lateral cuando ésta era administrada por el experimentador, aún cuando la estimulación empleada mantenía los mismos parámetros eléctricos con los que previamente se habían autoestimulado estos mismos animales. Este estudio pone de relieve la potencial influencia que

el control (o su ausencia) ejercido sobre la exposición a un estímulo puede desempeñar en la naturaleza aversiva o apetitiva de la estimulación cerebral. Posteriormente, otros estudios han puesto de manifiesto también otros efectos diferenciales relacionados con el hecho de que la estimulación eléctrica pueda ser controlada por el propio animal o no, y así, por ejemplo, mientras que en el primer caso, sólo se produce liberación de dopamina en el sistema límbico durante el primer ensayo de AEIC, disminuyendo ésta conforme avanza el aprendizaje (Garris et al., 1999; Kilpatrick et al., 2000), cuando, por el contrario, la estimulación es administrada de manera independiente a la conducta del animal no se observa esta reducción de la respuesta dopaminérgica al repetir los ensayos.

En este contexto, se ha propuesto incluso que mientras los animales pueden controlar el nivel de exposición a las drogas de abuso en los paradigmas de autoadministración, no sucede lo mismo, por ejemplo, en las tareas de Aprendizaje Aversivo Gustativo, lo cual parece sugerir que este hecho podría explicar la aparición y desarrollo de preferencias o aversiones, respectivamente (Hunt & Amit, 1987). Esta hipótesis no resulta compatible, sin embargo, con los resultados habitualmente observados en las pruebas de Condicionamiento de Preferencias por un lugar según la modalidad secuencial. En efecto, durante la aplicación de este procedimiento adquisitivo, los animales carecen de control sobre la administración de las sustancias y, sin embargo, son numerosos los agentes apetitivos que en estas circunstancias han podido ser condicionados, agentes tanto naturales (Spyraki et al., 1982; Bechara et al., 1992; Delamater et al., 2000; Spiteri et al., 2000; Papp et al., 2002; Duarte et al., 2003) como artificiales, como es el caso de la morfina (MacKey et al., 1985; Leone & Di Chiara, 1987; Bilsky et al., 1990; Suzuki & Misawa, 1995; Olmstead & Franklin, 1996; Maldonado et al., 1997; Xu et al., 2001; Rezayof et al., 2002; 2003; Milekic et al., 2006) y la cocaína (MacKey et al., 1985; Masukawa et al., 1993; Kaddis et al., 1995; Suzuki & Misawa, 1995; Kuzmin et al., 1997; Schiltein et al., 1998; Baunez et al., 2005). Más aún, se ha demostrado que una misma sustancia, concretamente el etanol, puede inducir preferencias o aversiones condicionadas en un paradigma de condicionamiento de un lugar, dependiendo de factores como la dosis utilizada y el momento de la administración (Cunningham, Clemans & Fidler, 2002).

Este último experimento de la Tesis Doctoral es, por otra parte, muy similar procedimentalmente a los estudios llevados a cabo con sustancias de abuso, en los que se analizan los cambios neuroadaptativos que éstas pueden inducir, sobre todo en lo referente a la

administración contingente y no contingente de, por ejemplo, la cocaína y otras drogas estimulantes, como la metanfetamina (Wilson et al., 1994; Hemby et al., 1997; Stefanski et al., 1999; 2004; 2007; Stuber, Roitman, Phillips, Carelli & Wightman, 2005; Lecca et al., 2007a; 2007b). En general, los resultados de estos estudios han revelado que la administración contingente o no contingente de las drogas de abuso suele ser determinante en cuanto a los efectos diferenciales que provoca a nivel cerebral (Wilson et al., 1994; Hemby et al., 1997; Stefanski et al., 1999; 2004; 2007; Stuber, Roitman, Phillips, Carelli & Wightman, 2005; Lecca et al., 2007a; 2007b). Así, por ejemplo, se ha descubierto que sólo en el caso de una administración no contingente de la cocaína se produce una reducción en los niveles de los receptores dopaminérgicos D2 en el caudado-putamen, en la cápsula (*shell*) o en la zona central (*core*) del núcleo accumbens (Stefanski et al., 2007). También se ha demostrado que mientras las drogas estimulantes autoadministradas pueden inducir un incremento en los receptores D2 y σ_1 del área tegmental ventral y de la zona compacta de la sustancia negra (Stefanski et al., 1999; 2004; 2007), no ocurre lo mismo cuando la administración de estas mismas sustancias se produce de manera no contingente.

Por otra parte, al examinar la reacción dopaminérgica del área central (*core*) del núcleo accumbens (mediante técnicas con alta resolución temporal) se comprueba que la administración contingente de cocaína provoca una respuesta transitoria dopaminérgica 1,5 segundos después de finalizar la conducta de administración, algo que no se produce (durante los 10 segundos siguientes) tras la administración no contingente de la droga. Estos resultados sugieren que la actividad dopaminérgica generada en esta región (tras la respuesta reforzada) podría estar relacionada con la asociación entre la conducta operante, las claves asociadas a la droga y la propia cocaína (Stuber et al., 2005).

En este sentido, cuando los animales son expuestos a la administración de cocaína de manera contingente, se produce una mayor liberación de dopamina en el núcleo accumbens que cuando se produce una administración no contingente (Hemby et al., 1997; Lecca et al., 2007a), un incremento de los niveles dopaminérgicos que, por otra parte, también se produce en la amígdala (Wilson et al., 1994).

Más aún, se ha demostrado que la cocaína autoadministrada puede aumentar el nivel de otros neurotransmisores cerebrales, particularmente la serotonina en la amígdala (Wilson et al., 1994) o la acetilcolina en el núcleo accumbens (Mark, Hajnal, Kinney & Keys, 1999).

A pesar de estos resultados diferenciales, el efecto de las distintas modalidades de administración de las sustancias de abuso sobre los procesos comportamentales no ha sido muy estudiado hasta el momento. Aunque Zapata y colaboradores (2003) demostraron que el proceso de sensibilización locomotora inducida por la cocaína no se veía afectado por el modo de administración, contingente o no contingente, de esta sustancia, los efectos relacionados con la capacidad reforzante de las sustancias de abuso no han sido estudiados hasta el momento.

El quinto y último Capítulo de esta Tesis Doctoral ha examinado el efecto de la modalidad de administración de la estimulación eléctrica intracerebral, contingente o no contingente, sobre el comportamiento de los animales, y particularmente sobre su efecto reforzante. Los resultados obtenidos demuestran que esta variable puede ser determinante en el mantenimiento o no del efecto recompensante de la estimulación eléctrica del NPBL e tras una estimulación repetida. En este estudio se demuestra que la estimulación eléctrica del NPBL e administrada pasivamente, es decir, de manera no contingente a la conducta del animal (pero no cuando es ofrecida activa o contingentemente), reduce progresivamente el efecto recompensante de la activación eléctrica (Experimento 9). Estos resultados están en la línea de los estudios de otros autores que han observado efectos diferenciales en función de que la estimulación eléctrica sea autoadministrada o no controlada. En esos estudios previos, llegan a producirse conductas de escape cuando la estimulación eléctrica es administrada por el experimentador, a pesar de que dicha estimulación mantiene los mismos parámetros eléctricos con los que el animal se había autoestimulado previamente (Steiner et al., 1969). Pero sobre todo, y aunque los efectos de la modalidad de administración de las sustancias de abuso sobre el comportamiento no han sido muy estudiados hasta el momento, existen datos que demuestran que en muchas ocasiones el efecto que las drogas de abuso ejercen a nivel cerebral está en función de que la administración se produzca de manera contingente o no contingente a la conducta del animal (Wilson et al., 1994; Hemby et al., 1997; Garris et al., 1999; Mark, Hajnal, Kinney & Keys, 1999; Stefanski et al., 1999; 2004; 2007; Kilpatrick et al., 2000; Lecca et al., 2007a; 2007b).

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- La estimulación eléctrica del núcleo parabraquial lateral externo (NPBL_e) induce comportamientos de aversión o recompensa en pruebas de condicionamiento hacia un lugar según la modalidad concurrente, originando tres poblaciones de animales diferenciadas: “Negativos” (aversivos), “Positivos” (reforzantes) y “Neutros” (indiferentes). La administración de naloxona, un antagonista opiáceo, bloquea el efecto de aversión hacia un lugar inducido por la activación del NPBL_e.
- Asimismo, este efecto aversivo también puede ser bloqueado en pruebas concurrentes mediante la administración de tiapride, un antagonista dopaminérgico selectivo de los receptores D2 y D3.
- El bloqueo del aprendizaje mediante la administración de tiapride parece ser específico y no puede ser explicado en términos de una reducción de la actividad/movilidad horizontal de los animales, ya que no se produce una reducción en el número de cruces que realizan los animales para pasar de un compartimento a otro del laberinto.
- La administración de naloxona bloquea el efecto de preferencia por un lugar inducido mediante la activación del NPBL_e en tareas de tipo concurrente.
- Sin embargo, la administración de tiapride no interfiere ahora con el desarrollo de preferencias por el lugar inducidas mediante estimulación eléctrica del NPBL_e en este tipo de tareas.

- El comportamiento de preferencia hacia un lugar inducido mediante estimulación eléctrica del NPBLe también puede producirse utilizando un procedimiento secuencial de Condicionamiento. Sin embargo, la aversión hacia un lugar inducida por estimulación de este mismo subnúcleo parabraquial sólo se produce a través de procedimientos concurrentes.
- El potencial reforzante de la estimulación eléctrica del NPBLe depende del procedimiento de estimulación: la activación diaria, pero no en días alternos, origina una reducción en el efecto reforzante en tareas de condicionamiento hacia un lugar.
- Igualmente, la estimulación eléctrica de la Corteza Insular Agranular Posterior provoca una reducción en su potencial reforzante cuando se lleva a cabo una administración diaria.
- La disminución en el efecto reforzante de la estimulación diaria de la Corteza Insular Agranular Posterior puede contrarrestarse mediante un incremento del 20% en la intensidad de la corriente eléctrica utilizada.
- La administración no contingente de la estimulación eléctrica del NPBLe, a diferencia de la estimulación contingente, provoca una notable reducción en la eficiencia reforzante de esta intervención cerebral.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acquas E., Carboni E., Leone P. & DiChiara G. (1989). SCH 23390 blocks drug-conditioned place-preference and place-aversion: anhedonia (lack of reward) or apathy (lack of motivation) after dopamine-receptor blockade?. *Psychopharmacology*, 99, 151-155.
- Agmo A., Galvan A. & Talamantes B. (1995). Reward and reinforcement produced by drinking sucrose: two processes that may depend on different neurotransmitters. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 52 (2), 403-414.
- Aguado Aguilar L. (2001). Aprendizaje y memoria. *Revista de Neurología*, 32 (4), 373-381.
- Agüero A., Arnedo M., Gallo M. & Puerto A. (1993a). Lesions of the lateral parabrachial nuclei disrupt aversion learning induced by electrical stimulation of the area postrema. *Brain Research Bulletin*, 30, 585-592.
- Agüero A., Arnedo M., Gallo M. & Puerto A. (1993b). The functional relevance of the lateral parabrachial nucleus in lithium chloride-induced aversion learning. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 45 (4), 973-978.
- Agüero A., Gallo M., Arnedo M., Molina F. & Puerto A. (1997). The functional relevance of medial parabrachial nucleus in intragastric sodium chloride-induced short-term (concurrent) aversion learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 67 (2), 161-166.
- Agustín-Pavón C., Martínez-Ricós J., Martínez-García F. & Lanuza E. (2007). Effects of dopaminergic drugs on innate pheromone-mediated reward in female mice: a new case of dopamine-independent "liking". *Behavioral Neuroscience*, 121 (5), 920-932.
- Akil H. & Liebeskind J.C. (1975). Monoaminergic mechanisms of stimulation-produced analgesia. *Brain Research*, 94 (2), 279-296.
- Akil H., Meng F., Devine D.P. & Watson S.J. (1997). Molecular and neuroanatomical properties of the endogenous opioid system: Implications for treatment of opiate addiction. *Seminars in Neuroscience*, 9, 70-83.
- Alden M., Besson J.M. & Bernard J.F. (1994). Organization of the efferent projections from the pontine parabrachial area to the bed nucleus of the stria terminalis and neighboring regions: a PHA-L study in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 341 (3), 289-314.
- Aleksandrov V.G., Bagaev V.A., Nozdrachev D. & Panteleev S.S. (1996). Identification of gastric related neurons in the rat insular cortex. *Neuroscience Letters*, 216, 5-8.
- Ambrose-Lanci L.M., Peiris N.B., Unterwald E.M. & Van Bockstaele E.J. (2008). Cocaine withdrawal-induced trafficking of delta-opioid receptors in rat nucleus accumbens. *Brain Research*, 1210, 92-102.
- Amitai N., Liu J. & Schulteis G. (2006). Discrete cues paired with naloxone-precipitated withdrawal from acute morphine dependence elicit conditioned withdrawal responses. *Behavioral Pharmacology*, 17, 213-222.
- Anderson R., Diotte M. & Miliaressis E. (1995). The bidirectional interaction between ventral tegmental rewarding and hindbrain aversive stimulation effects in the rat. *Brain Research*, 688 (1-2), 15-20.
- Andrade C.A., Barbosa S.P., De Luca L.A. Jr. & Menani J.V. (2004). Activation of alpha2-adrenergic receptors into the lateral parabrachial nucleus enhances NaCl intake in rats. *Neuroscience*, 129 (1), 25-34.

- Andrade-Franzé G.M., Andrade C.A., De Luca L.A. Jr, De Paula P.M. & Menani J.V. (2010a). Lateral parabrachial nucleus and central amygdala in the control of sodium intake. *Neuroscience*, 165 (3), 633-641.
- Andrade-Franzé G.M., Andrade C.A., De Luca L.A. Jr., De Paula P.M., Colombari D.S. & Menani J.V. (2010b). Lesions in the central amygdala impair sodium intake induced by the blockade of the lateral parabrachial nucleus. *Brain Research*, 1332, 57-64.
- Andre J.St., Albanos K. y Reilly S. (2007). C-Fos expression in the rat brain following lithium chloride-induced illness. *Brain Research*, 1135, 122-128.
- Andrew D. (2010). Quantitative characterization of low-threshold mechanoreceptor inputs to lamina I spinoparabrachial neurons in the rat. *The Journal of Physiology*, 588 (1), 117-124.
- Aragona B.J., Cleaveland N.A., Stuber G.D., Day J.J., Carelli R.M. & Wightman R.M. (2008). Preferential enhancement of dopamine transmission within the nucleus accumbens shell by cocaine is attributable to a direct increase in phasic dopamine release events. *The Journal of Neuroscience*, 28 (35), 8821-8831.
- Arjune D. & Bodnar R.J. (1990). Suppression of nocturnal, palatable and glucoprivic intake in rats by the κ opioid antagonist, nor-binaltorphimine. *Brain Research*, 534, 313-316.
- Arnedo M., Gallo M., Agüero A. & Puerto A. (1990). Effects of medullary afferent vagal axotomy and area postrema lesions on short-term and long-term NaCl-induced taste aversion learning. *Physiology & Behavior*, 47 (6), 1067-1074.
- Arnedo M., Gallo M., Agüero A., Molina F. & Puerto A. (1993). Medullary afferent vagal axotomy disrupts NaCl-induced short-term taste aversion learning. *Behavioral and Neural Biology*, 59, 69-75.
- Arvanitogiannis A., Flores C. & Shizgal P. (1997). Fos-like immunoreactivity in the caudal diencephalon and brainstem following lateral hypothalamic self-stimulation. *Behavioural Brain Research*, 88 (2), 275-279.
- Arvanitogiannis A., Tzschentke T.M., Riscaldino L., Wise R.A. & Shizgal P. (2000). Fos expression following self-stimulation of the medial prefrontal cortex. *Behavioural Brain Research*, 107 (1-2), 123-132.
- Augustine J.R. (1996). Circuitry and functional aspects of the insular lobe in primates including humans. *Brain Research Reviews*, 22, 229-244.
- Avanzi V., Castilho V.M., de Andrade T.G. & Brandão M.L. (1998). Regulation of contextual conditioning by the median raphe nucleus. *Brain Research*, 790 (1-2), 178-184.
- Avena N.M., Rada P. & Hoebel B.G. (2007). Underweight rats have enhanced dopamine release and blunted acetylcholine response in the nucleus accumbens while bingeing on sucrose. *Behavioural neuroscience*, 156 (4), 865-871.
- Azar M.R., Jones B.C. & Schulteis G. (2003). Conditioned place aversion is a highly sensitive index of acute opioid dependence and withdrawal. *Psychopharmacology*, 170, 42-50.
- Azzara A.V., Bodnar R.J., Delamater A.R. & Sclafani A. (2000). Naltrexone fails to block the acquisition or expression of a flavor preference conditioned by intragastric carbohydrate infusions. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 67, 545-557.
- Badawy A.A.B., Evans M., Punjani N.F. & Morgan C.J. (1983). Does naloxone always act as an opiate antagonist?. *Life Science*, 33 (Supl. 1), 739-742.

- Badiani A. & Stewart J. (1993). Enhancement of the prophagic but not antidipsogenic effect of U50.488H after chronic amphetamine. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 44, 77-86.
- Badiani A., Oates M.M. & Robinson T.E. (2000). Modulation of morphine sensitization in the rat by contextual stimuli. *Psychopharmacology*, 151, 273-282.
- Bagri A., Sandner G. & Di Scala G. (1991). Wild running and switch-off behavior elicited by electrical stimulation of the inferior colliculus: effect of anticonvulsant drugs. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 39 (3), 683-688.
- Bagri A., Sandner G. & Di Scala G. (2005). Aversive effects elicited by electrical stimulation of the inferior colliculus in normal and audiogenic seizure susceptible rats. *Neuroscience Letters*, 379 (3), 180-184.
- Baillie P. & Morrison S.D. (1963). The nature of the suppression of food intake by lateral hypothalamic lesions in rats. *The Journal of Physiology*, 165, 227-45.
- Baker R.W., Li Y., Lee M.G. Sclafani A. & Bodnar R.J. (2004). Naltrexone does not prevent acquisition or expression of flavor preferences conditioned by fructose in rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 78, 239-246.
- Balaban C.D. & Thayer J.F. (2001). Neurological bases for balance-anxiety links. *Journal of Anxiety Disorders*, 15, 53-79.
- Balcells-Olivero M. & Vezina P. (1997). Effects of naltrexone on amphetamine-induced locomotion and rearing: acute and repeated injections. *Psychopharmacology*, 131, 230-238.
- Balleine B. & Dickinson A. (2002). The motivation of behavior. En: Atrens D.M. *The student's companion to psychology*. Oxford: Brasil Blackwell Limited. Pages 1-48. Manuscript.
- Balleine B. (1992). Instrumental performance following a shift in primary motivation depends on incentive learning. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 18 (3), 236-250.
- Balleine B.W. & Dickinson A. (1998). Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology*, 37, 407-419.
- Bals-Kubik R., Ableitner A., Herz A., Shippenberg T.S. (1993). Neuroanatomical sites mediating the motivational effects of opioids as mapped by the conditioned place preference paradigm in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 264 (1), 489-495.
- Bandler R. & Carrive P. (1988). Integrated defence reaction elicited by excitatory amino acid microinjection in the midbrain periaqueductal grey region of the unrestrained cat. *Brain Research*, 439 (1-2), 95-106.
- Barbano M.F. & Cador M. (2007). Opioids for hedonic experience and dopamine to get ready for it. *Psychopharmacology*, 191 (3), 497-506.
- Bardgett M.E., Depenbrock M., Downs N., Points M. & Green L. (2009). Dopamine modulates effort-based decision making in rats. *Behavioral Neuroscience*, 123 (2), 242-251.
- Bardo M.T. & Bevins R.A. (2000). Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward?. *Psychopharmacology*, 153 (1), 31-43.
- Bardo M.T., Rowlett J.K. & Harris M.J. (1995). Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: a meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 19 (1), 39-51.

- Barr A.M. & Phillips A.B. (1999). Withdrawal following repeated exposure to d-amphetamine decreases responding for a sucrose solution as measured by a progressive ratio schedule of reinforcement. *Psychopharmacology*, 141 (1), 99-106.
- Bartoletti M., Gaiardi M., Gubellini G., Bacchi A. & Babbini M. (1983). Long-term sensitization to the excitatory effects of morphine. A Motility study in post-dependet rats. *Neuropharmacology*, 22 (10), 1193-1196.
- Bassareo V. & Di Chiara G. (1999). Differential responsiveness of dopamine transmission to food-stimuli in nucleus accumbens shell/core compartments. *Neuroscience*, 89 (3), 637-641.
- Bauco P. & Wise R.A. (1994). Potentiation of lateral hypothalamic and midline mesencephalic brain stimulation reinforcement by nicotine: examination of repeated treatment. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 271 (1), 294-301.
- Baunez C., Dias C., Cador M. & Amalric M. (2005). The subthalamic nucleus exert opposite control on cocaine and "natural" reward. *Nature Neuroscience*, 8 (4), 484-489.
- Beardsley P.M., Howard J.L., Shelton K.L. & Carrol F.I. (2005). Differential effects of the novel kappa opioid receptor antagonist, JDTC, on reinstatement of cocaine-seeking induced by footshock stressors vs cocaine primes and its antidepressant-like effects in rats. *Psychopharmacology*, 183, 118-126.
- Bechara A. & Van der Kooy D. (1985). Opposite motivational effects of endogenous opioids in brain and periphery. *Nature*, 314 (6011), 533-534.
- Bechara A. & Van der Kooy D. (1987). Kappa receptors mediate the peripheral aversive effects of opiates. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 28 (2), 227-233.
- Bechara A. & Van der Kooy D. (1992a). A single brain stem substrate mediates the motivational effects of both opiates and food in nondeprived rats but not in deprived rats. *Behavioral Neuroscience*, 106 (2), 351-363.
- Bechara A. & Van der Kooy D. (1992b). Lesions of the tegmental pedunculopontine nucleus: Effects on locomotor activity induced by morphine and amphetamine. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 42, 9-18.
- Bechara A. (2004). Disturbances of emotion regulation after focal brain lesions. *International review of neurobiology*, 62, 159-193.
- Bechara A., Harrington F., Nader K. & Van der Kooy D. (1992). Neurobiology of motivation: Double dissociation of two motivational mechanisms mediating opiate reward in drug-naive versus drug-dependent animals. *Behavioral Neuroscience*, 106 (5), 798-807.
- Bechara A., Martin G.M., Pridgar A. & Van der Kooy D. (1993). The parabrachial nucleus: a brain stem substrate critical for mediating the aversive motivational effects of morphine. *Behavioral Neuroscience*, 107 (7), 147-160.
- Bechara A., Nader K. & Van der Kooy D. (1995). Neurobiology of withdrawal motivation: evidence for two separate aversive effects produced in morphine-naive versus morphine-dependent rats by both naloxone and spontaneous withdrawal. *Behavioral Neuroscience*, 109 (1), 91-105.
- Bechara A., Nader K. & Van der Kooy D. (1998). A two-separate-motivational-systems hypothesis of opioid addiction. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 59 (1), 1-17.
- Bechara A., Zito K.A. & Van der Kooy D. (1987). Peripheral receptors mediate the aversive conditioning effects of morphine in the rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 28 (2), 219-225.

- Behbehani M.M. (1995). Functional characteristics of the midbrain periaqueductal gray. *Progress in Neurobiology*, 46 (6), 575-605.
- Benaliouad F., Kapur S. & Rompré P.P. (2007). Blockade of 5-HT_{2a} receptors reduces haloperidol-induced attenuation of reward. *Neuropsychopharmacology*, 32 (3), 551-561.
- Bender S., Scherbaum N., Soyka M., Rütther E., Mann K. & Gastpar M. (2007). The efficacy of the dopamine D₂/D₃ antagonist tiapride in maintaining abstinence: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in 299 alcohol-dependent patients. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 10 (5), 653-660.
- Beninger R.J., MacLennan A.J. & Pinel J.P.J. (1980a). The use of conditioned defensive burying to test the effects of pimocidone on associative learning. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 12, 445-448.
- Beninger R.J., Mason S.T., Phillips A.G. & Fibiger H.C. (1980b). The use of conditioned suppression to evaluate the nature of neuroleptic-induced avoidance deficits. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 213 (3), 623-627.
- Benjamin R.M. & Akert K. (1959). Cortical and thalamic areas involved in taste discrimination in the albino rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 111, 231-259.
- Berger D.F., Starzec J.J., Marson E.B. & DeVito W. (1980). The effects of differential psychological stress on plasma cholesterol levels in rats. *Psychosomatic medicine*, 42 (5), 481-492.
- Berman D.E. (2003). Modulation of taste-induced Elk-1 activation by identified neurotransmitter systems in the insular cortex of the behaving rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 79, 122-126.
- Bernard J.F. & Bandle R. (1998). Parallel circuits for emotional coping behaviour: new pieces in the puzzle. *The Journal of Comparative Neurology*, 401, 429-436.
- Bernard J.F., Carroué J. & Besson J.M. (1991). Efferent projections from the external parabrachial area to the forebrain: a *Phaseolus Vulgaris* leucoagglutinin study in the rat. *Neuroscience Letters*, 122, 257-260.
- Bernard J.F., Dallel R., Raboisson P., Villanueva L. & Le Bars D. (1995). Organization of the efferent projections from the spinal cervical enlargement to the parabrachial area and periaqueductal gray: a PHA-L study in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 353 (4), 480-505.
- Bernard J.F., Huang G.F. & Besson J.M. (1994). The parabrachial area: Electrophysiological evidence for an involvement in visceral nociceptive processes. *Journal of Neurophysiology*, 71 (5), 1646-1660.
- Bernardis L.L., Bellinger L.L. & Awad A. (1990). Metabolic-endocrine correlates of the lateral hypothalamic syndrome: the first 48 hours. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 37 (3), 393-398.
- Bernstein I.L. (1999). Taste Aversion Learning: A Contemporary Perspective. *Nutrition*, 15 (3), 229-234.
- Bernstein M.A. & Welch S.P. (1998). mu-Opioid receptor down-regulation and cAMP-dependent protein kinase phosphorylation in a mouse model of chronic morphine tolerance. *Brain Research. Molecular Brain Research*, 55 (2), 237-242.
- Berridge K.C. & Robinson T.E. (1998). What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience?. *Brain Research Reviews*, 28 (3), 309-69.
- Berridge K.C. & Valenstein E.S. (1991). What psychological process mediates feeding evoked by electrical stimulation of the lateral hypothalamus?. *Behavioral Neuroscience*, 105 (1), 3-14.

- Berridge K.C. (1991). Modulation of taste affect by hunger, caloric satiety, and sensory-specific satiety in the rat. *Appetite*, 16 (2), 103-120.
- Berridge K.C. (1996). Food reward: brain substrates of wanting and liking. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 20 (1), 1-25.
- Berridge K.C. (2000). Measuring hedonic impact in animal and infants: microstructure of affective taste reactivity patterns. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24, 173-198.
- Berridge K.C. (2003). Pleasures of the brain. *Brain and Cognition*, 52, 106-128.
- Berridge K.C. (2005). Espresso reward learning, hold the dopamine: Theoretical comment on Robinson et al. (2005). *Behavioral Neuroscience*, 119 (1), 339-341.
- Besson C. & Louilot A. (1997). Striatal dopaminergic changes depend on the attractive or aversive value of stimulus. *NeuroReport*, 8 (16), 3523-3726.
- Bester H., Besson J.M. & Bernard J.F. (1997). Organization of efferent projections from the parabrachial area to the hypothalamus: a Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin study in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 383 (3), 245-281.
- Bester H., Chapman V., Besson J.M. & Bernard J.F. (2000). Physiological properties of the lamina I spinoparabrachial neurons in the rat. *Journal of Neurophysiology*, 83 (4), 2239-2259.
- Bester H., Menendez L., Besson J.M. & Bernard J.F. (1995). Spino (trigemino) parabrachiohypothalamic pathway: electrophysiological evidence for an involvement in pain processes. *Journal of Neurophysiology*, 73 (2), 568-585.
- Biala G., Budzynska B. & Kruk M. (2005). Naloxone precipitates nicotine abstinence syndrome and attenuates nicotine-induced antinociception in mice. *Pharmacological Reports*, 57, 755-760.
- Bielajew C., Diotte M. & Milaresis E. (2003). Effects of naloxone on rewarding and aversive brain sites. *Behavioral Brain Research*, 143, 75-83.
- Bilsky E.J., Marglin S.H. & Reid L.D. (1990). Using antagonists to assess neurochemical coding of a drug's ability to establish a conditioned place preference. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 37, 425-431.
- Bindra D. (1974). A motivational view of learning, performance, and behavior modification. *Psychological Review*, 81 (3), 199-213.
- Bittar R.G., Kar-purkayastha I., Owen S.I., Bear R.E., Green A., Wang S., & Aziz T.Z. (2005). Deep brain stimulation for pain relief: A meta-analysis. *Journal of Clinical Neuroscience*, 12, 515-519.
- Black J., Belluzzi J.D. & Stein L. (1985). Reinforcement delay of one second severely impairs acquisition of brain self-stimulation. *Brain Research*, 359 (1-2), 113-119.
- Blackburn J.R. & Phillips A.G. (1990). Enhancement of freezing behavior by metoclopramide: Implications for neuroleptic-induced avoidance deficits. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 35, 685-691.
- Blackburn J.R., Pfaus J.G. & Phillips A.G. (1992). Dopamine functions in appetitive and defensive behaviours. *Progress in Neurobiology*, 39, 247-279.
- Blanchard D.C., Williams G., Lee E.M.C. & Blanchard J. (1981). Taming of wild rattus norvegicus by lesions of the mesencephalic central gray. *Physiological Psychology*, 9 (2), 157-163.

- Blokhina E.A., Sukhotina I.A. & Bespalov A.Y. (2000). Pretreatment with morphine potentiates naloxone-conditioned place aversion in mice: effects of NMDA receptor antagonists. *European Journal of Pharmacology*, 406, 227-232.
- Bohn L.M., Gainetdinov R.R., Lin F.T., Lefkowitz R.J. & Caron M.G. (2000). Mu-opioid desensitization by beta-arrestin-2 determines morphine tolerance but not dependence. *Nature*, 408, 720-723.
- Bonis J.M., Neumueller S.E., Krause K.L., Kiner T., Smith A., Marshall B.D., Qian B., Pan L.G. & Forster H.V. (2010b). The pontine respiratory group, particularly the Kölliker-Fuse nucleus, mediates phases of the hypoxic ventilatory response in unanesthetized goats. *Journal of Applied Physiology*, 108 (5), 1321-1335.
- Bonis J.M., Neumueller S.E., Krause K.L., Kiner T., Smith A., Marshall B.D., Qian B., Pan L.G. & Forster H.V. (2010a). A role for the Kölliker-Fuse nucleus in cholinergic modulation of breathing at night during wakefulness and NREM sleep. *Journal of Applied Physiology*, 109 (1), 159-170.
- Bourgeois L., Monconduit L., Villaneuva L. & Bernard J.F. (2001). Parabrachial internal lateral neurons convey nociceptive messages from the deep laminae of the dorsal horn to the intralaminar thalamus. *The Journal of Neuroscience*, 21 (6), 2159-2165.
- Bovier P., Broekkamp C.L. & Lloyd K.G. (1982). Enhancing GABAergic transmission reverses the aversive state in rats induced by electrical stimulation of the periaqueductal grey region. *Brain Research*, 248 (2), 313-320.
- Bozarth M.A. & Wise R.A. (1981). Intracranial self-administration of morphine into the ventral tegmental area in rats. *Life Science*, 28, 551-555.
- Bozarth M.A. & Wise R.A. (1983). Neural substrates of opiate reinforcement. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 7 (4-6), 569-575.
- Bozarth M.A. & Wise R.A. (1985). Toxicity associated with long-term intravenous heroin and cocaine self-administration in the rat. *JAMA*, 254 (1), 81-83.
- Bozarth M.A. (1987). Neuroanatomical boundaries of the reward-relevant opiate-receptor field in the ventral tegmental area as mapped by the conditioned place preference method in rats. *Brain Research*, 414 (1), 77-84.
- Brady J.V., Boren J.J., Conrad D. & Sidman M. (1957). The effect of food and water deprivation upon intracranial self-stimulation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 50 (2), 134-137.
- Brammer G. (1981). Pharmacological investigations of neurotransmitter involvement in passive avoidance responding: a review and some new results. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 6, 247-296.
- Brandao M.L., Anseloni V.Z., Pandóssio J.E., De Araújo J.E. & Castilho V.M. (1999). Neurochemical mechanisms of the defensive behavior in the dorsal midbrain. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23 (6), 863-875.
- Brandão M.L., de Aguiar J.C. & Graeff F.G. (1982). GABA mediation of the anti-aversive action of minor tranquilizers. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 16 (3), 397-402.
- Brandao M.L., Troncoso A.C., de Souza Silva M.A. & Huston J.P. (2003). The relevance of neuronal substrates of defense in the midbrain tectum to anxiety and stress: empirical and conceptual considerations. *European Journal of Pharmacology*, 463 (1-3), 225-233.
- Braun J.J. (1990). Gustatory cortex: Definition and function. In: Kolb B. & Tees R.C. (Ed.). *The cerebral cortex of the rat*. Cambridge: The MIT Press. Capítulo 12, pp. 407-430.

- Breiter H.C., Gollub R.L., Weisskoff R.M., Kennedy D.N., Makris N., Berke J.D., Goodman J.M., Kantor H.L., Gastfriend D.R., Riorden J.P., Mathew R.T., Rosen B.R. & Hyman S.E. (1997). Acute effects of cocaine on human brain activity and emotion. *Neuron*, 19, 591-611.
- Brischoux F., Chakraborty S., Brierley D.I. & Ungless M.A. (2009). Phasic excitation of dopamine neurons in ventral VTA by noxious stimuli. *PNAS*, 106 (12), 4894-4899.
- Brody AL., Mandelkern M.A., London E.D., Childress A.R., Lee G.S., Bota R.G., Ho M.L., Saxena S., Baxter L.R. Jr., Madsen D. & Jarvik M.E. (2002). Brain metabolic changes during cigarette craving. *Archives of General Psychiatry*, 59, 1162-1172.
- Broekkamp C.L. & Phillips A.G. (1979). Facilitation of self-stimulation behavior following intracerebral microinjections of opioids into the ventral tegmental area. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 11 (3), 289-295.
- Brooks J.C.W., Zambreanu L., Godinez A., Craig A.D. & Tracey I. (2005). Somatotopic organisation of the human insula to painful heat studied with high resolution functional imaging. *NeuroImage*, 27, 201-209.
- Brown E.E. & Fibiger H.C. (1992). Cocaine-induced conditioned locomotion: absence of associated increases in dopamine release. *Neuroscience*, 48 (3), 621-629.
- Bryant C.D., Zaki P.A., Carroll I. & Evans C.R. (2005). Opioids and addiction: Emerging pharmaceutical strategies for reducing reward and opponent processes. *Clinical Neuroscience Research*, 5, 103-115.
- Burkey A.R., Carstens J.J., Weninger E. & Jasmin L. (1996). An opioidergic cortical antinociception triggering set in the agranular insular cortex of the rat contributes to morphine antinociception. *The Journal of Neuroscience*, 16 (20), 6612-6623.
- Burton M.J., Rolls E.T. & Mora F. (1976). Effects of hunger on the responses of neurons in the lateral hypothalamus to the sight and taste of food. *Experimental Neurology*, 51 (3), 668-677
- Butti C. & Hof P.R. (2010). The insular cortex: a comparative perspective. *Brain Structure & Function*, 214 (5-6), 477-493.
- Cadoni C., Solinas M., Pisanu A., Zernig G., Acquas E. & Di Chiara G. (2005). Effect of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") on dopamine transmission in the nucleus accumbens shell and core. *Brain Research*, 1055 (1-2), 143-148.
- Caggiula A.R. & Hoebel B.G. (1966). "Copulation-reward site" in the posterior hypothalamus. *Science*, 153 (741), 1284-1285.
- Caggiula A.R. (1970). Analysis of the copulation-reward properties of posterior hypothalamic stimulation in male rats. *The Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 70 (3), 399-412.
- Caillé S. & Parsons L.H. (2003). SR141716A reduces the reinforcing properties of heroin but not heroin-induced increases in nucleus accumbens dopamine in rats. *European Journal of Neuroscience*, 18 (11), 3145-3149.
- Caillé S., Alvarez-Jaimes L., Polis I., Stouffer D.G. & Parsons L.H. (2007). Specific alterations of extracellular endocannabinoid levels in the nucleus accumbens by ethanol, heroin, and cocaine self-administration. *The Journal of Neuroscience*, 27 (14), 3695-3702.
- Callera J.C., Oliveira L.B., Barbosa S.P., Colombari D.S., De Luca L.A. Jr. & Menani J.V. (2005). GABA(A) receptor activation in the lateral parabrachial nucleus induces water and hypertonic NaCl intake. *Neuroscience*, 134 (3), 725-735.

- Camarero J., Sánchez V., O'Shea E., Green A.R. & Colado M.I. (2002). Studies, using in vivo microdialysis, on the effect of the dopamine uptake inhibitor GBR 12909 on 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy")-induced dopamine release and free radical formation in the mouse striatum. *Journal of Neurochemistry*, 81 (5), 961-972.
- Campiani G., Butini S., Trotta F., Fattorusso C., Catalanotti B., Aiello F., Gemma S., Nacci V., Novellino E., Stark J.A., Cagnotto A., Fumagalli E., Carnovali F., Cervo L. & Mennini T. (2003). Synthesis and pharmacological evaluation of potent and highly selective D3 receptor ligands: inhibition of cocaine-seeking behavior and the role of dopamine D3/D2 receptors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46 (18), 3822-3839.
- Cannon C.M. & Bseiki M.R. (2004). Is dopamine required for natural reward? *Physiology & Behavior*, 81, 741-748.
- Cannon C.M. & Palmiter R.D. (2003). Reward without dopamine. *The Journal of Neuroscience*, 23, 10827-10831.
- Cañas J.J., Quesada J.F. & Antolí A. (1999). Flexibilidad del conocimiento implícito. *Psicothema*, 11 (4), 901-916.
- Capdevilla Ortis L., Segura Torres P. y Morgado Bernal I. (1988). Implicación del sustrato nervioso del refuerzo en los procesos de aprendizaje y memoria. *Archivos de neurología*, 51 (5), 269-277.
- Cardinal R.M. & Everit B.J. (2004). Neural and psychological mechanisms underlying appetitive learning: links to drug addiction. *Current Opinion in Neurobiology*, 14, 156-162.
- Cardoso S.H., Coimbra N.C. & Brandão M.L. (1994). Defensive reactions evoked by activation of NMDA receptors in distinct sites of the inferior colliculus. *Behavioural Brain Research*, 63 (1), 17-24.
- Carelli R.M., Ijames S.G. & Crumling A.J. (2000). Evidence that separate neural circuits in the nucleus accumbens encode cocaine versus "natural" (water and food) reward. *The Journal of Neuroscience*, 20 (11), 4255-4266.
- Carelli R.M., King V.C., Hampson R.E. & Deadwyler S.A. (1993). Firing patterns of nucleus accumbens neurons during cocaine self-administration in rats. *Brain Research*, 626 (1-2), 14-22
- Carli M., Evender J.L. & Robbins T.W. (1985). Depletion of unilateral striatal dopamine impairs initiation of contralateral actions and not sensory attention. *Nature*, 313, 679-682.
- Carlson J.M., Greenberg T., Rubin D. & Mujica-Parodi L.R. (2011). Feeling anxious: anticipatory amygdalo-insular response predicts the feeling of anxious anticipation. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 6 (1), 74-81.
- Carlson R.H. & Lydic R. (1976). The effects of ethanol upon threshold and response rate for self-stimulation. *Psychopharmacology*, 50 (1), 61-64.
- Carr D.G., Fibiger H.C. & Phillips A.G. (1989). Conditioned place preference as a measure of drug reward. En: Lieberman J.M. & Cooper S.J. *The Neuropharmacological basis of reward*. Oxford University Press. Cap. 7. pp 264-319.
- Carr K.D. & Coons E.E. (1982). Lateral hypothalamic stimulation gates nucleus gigantocellularis-induced aversion via a reward-independent process. *Brain Research*, 232 (2), 293-316.
- Carr K.D. & Papadouka V. (1994). The role of multiple opioid receptors in the potentiation or reward by food restriction. *Brain Research*, 639, 253-260.

- Carr K.D. & Simon E.J. (1983). Effects of naloxone and its quaternary analogue on stimulation-induced feeding. *Neuropharmacology*, 22 (1), 127-130.
- Carr K.D. & Wolinsky T.D. (1993). Chronic food restriction and weight loss produce opioid facilitation of perifornical hypothalamic self-stimulation. *Brain Research*, 607, 141-148.
- Carr K.D. (1996). Opioid receptor subtypes and stimulation-induced feeding. En: Coper S.J. & Clifton P.G. *Drug Receptor Subtypes and Ingestive Behaviour*. San Diego (California): Academic Press. 167-191.
- Carr K.D. (2002). Augmentation of drug reward by chronic food restriction: behavioural evidence and underlying mechanisms. *Physiology & Behavior*, 76, 353-364.
- Carr K.D., Aleman D.O., Bak T.H. & Simon E.J. (1991). Effects of parabrachial opioid antagonism on stimulation-induced feeding. *Brain Research*, 545, 283-286.
- Carr K.D., Bonnet K.A. & Simon E.J. (1982). Mu and kappa opioid agonists elevate brain stimulation threshold for escape by inhibiting aversion. *Brain Research*, 245 (2), 389-393.
- Carr K.D., Chau L.S., Cabeza de Vaca S., Gustafson K., Stouffer M., Tukey D.S., Restituto S., Ziff E.B. (2010). AMPA receptor subunit GluR1 downstream of D-1 dopamine receptor stimulation in nucleus accumbens shell mediates increased drug reward magnitude in food-restricted rats. *Neuroscience*, 165 (4), 1074-1086.
- Carr K.D., Kutchukhidze N. & Park T.H. (1999). Differential effects of mu and kappa opioid antagonists on Fos-like immunoreactivity in extended amygdala. *Brain Research*, 822 (1-2), 34-42.
- Cassaday H.J., Horsley R.R. & Norman C. (2005). Electrolytic lesions to nucleus accumbens core and shell have dissociable effects on conditioning to discrete and contextual cues in aversive and appetitive procedures respectively. *Behavioral Brain Research*, 160, 222-235.
- Castañeda E., Becker J.B. & Robinson T.E. (1988). The long-term effects of repeated amphetamine treatment in vivo on amphetamine, KCI and electrical stimulation evoked striatal dopamine release in vitro. *Life Science*, 42, 2447-2456.
- Castellano C., Battaglia M. & Sansone M. (1992). Oxiracetam prevents haloperidol-induced passive avoidance impairment in mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 42, 797-801.
- Castilho V.M., Avanzi V. & Brandão M.L. (1999). Antinociception elicited by aversive stimulation of the inferior colliculus. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 62 (3), 425-431.
- Cazala P. & David V. (1991). Differential effects of naloxone on approach and escape responses induced by electrical stimulation of the lateral hypothalamus or the mesencephalic central gray area in mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 40, 323-327.
- Cechetto D.F. & Saper B.S. (1987). Evidence for a viscerotopic sensory representation in the cortex and thalamus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 262, 27-45.
- Célèrier E., Laulin J.P., Corcuff J.B., Le Moal M. & Simonnet G. (2001). Progressive enhancement of delayed hyperalgesia induced by repeated heroin administration: A sensitization process. *The Journal of Neuroscience*, 21 (11), 4074-4080.
- Cenci M.A., Kalén P., Mandel R.J. & Björklund A. (1992). Regional differences in the regulation of dopamine and noradrenaline release in medial frontal cortex, nucleus accumbens and caudate-putamen: a microdialysis study in the rat. *Brain research*, 581, 217-228.

- Cerqueira C.T., Almeida J.R., Gorenstein C., Gentil V., Leite C.C., Sato J.R., Amaro E. Jr. & Busatto G.F. (2008). Engagement of multifocal neural circuits during recall of autobiographical happy events. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 41 (12), 1076-1085.
- Cervo L., Carnovali F., Stark J.A. & Mennini T. (2003). Cocaine-seeking behavior in response to drug-associated stimuli in rats: involvement of D3 and D2 dopamine receptors. *Neuropsychopharmacology*, 28 (6), 1150-1159.
- Chaillet P., Coulaud A., Fournié-Zaluski M.C., Gacel G., Roques B.P. & Costentin J. (1983). Pain control by endogenous enkephalins is mediated by mu opioid receptors. *Life Sciences*, 33 (Supl. 1), 685-688.
- Chamberlin N.L. & Saper C.B. (1995). Differential distribution of AMPA-selective glutamate receptor subunits in the parabrachial nucleus of the rat. *Neuroscience*, 68 (2), 435-443.
- Chamberlin N.L. (2004). Functional organization of the parabrachial complex and intertrigeminal region in the control of breathing. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 143, 115-125.
- Chamberlin N.L., Mansour A., Watson S.J. & Saper C.B. (1999). Localization of mu-opioid receptors on amygdaloid projection neurons in the parabrachial nucleus of the rat. *Brain Research*, 827, 198-204.
- Chen J., Nakamura M., Kawamura T., Takahashi T. & Nakahara D. (2006). Roles of pedunculopontine tegmental cholinergic receptors in brain stimulation reward in the rat. *Psychopharmacology*, 184, 514-522.
- Chen T., Hui R., Li Y. & Mizuno N. (2004). Endomorphin 1- and endomorphin 2-like immunoreactive neurons in the hypothalamus send axons to the parabrachial nucleus in the rat. *Neuroscience Letters*, 357, 139-142.
- Chiang Y.C., Chen P.C. & Chen J.C. (2003). D(3) dopamine receptors are down-regulated in amphetamine sensitized rats and their putative antagonists modulate the locomotor sensitization to amphetamine. *Brain Research*, 972 (1-2), 159-167.
- Chiba S., Hayashida M., Yoshikawa M., Shu H., Nishiyama T. & Yamada Y. (2009). Inhibitory effect of low-dose pentazocine on the development of antinociceptive tolerance to morphine. *Journal of Anesthesia*, 23 (1), 99-107.
- Chikama M., McFarland N.R., Amaral D.G. & Haber S.N. (1997). Insular cortical projections to functional regions of the striatum correlate with cortical cytoarchitectonic organization in the primate. *The Journal of Neuroscience*, 17 (24), 9686-9705.
- Childress A.R., Mozley P.D., McElgin W., Fitzgerald J., Reivich M. & O'Brien C.P. (1999). Limbic activation during cue-induced cocaine craving. *The American Journal of Psychiatry*, 156 (1), 11-18.
- Chiodo L.A., Antelman S.M., Caggiula A.R. & Lineberry C.G. (1980). Sensory stimuli alter the discharge rate of dopamine (DA) neurons: evidence for two functional types of DA cells in the substantia nigra. *Brain Research*, 189, 544-549.
- Cho Y.K., Li C.S. & Smith D.V. (2002). Taste responses of neurons of the hamster solitary nucleus are enhanced by lateral hypothalamic stimulation. *Journal of Neurophysiology*, 87 (4), 1981-1992.
- Christopher S.M. & Butter C.M. (1968). Consummatory behaviors and locomotor exploration evoked from self-stimulation sites in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 66 (2), 335-339
- Clark E.M. & Bernstein I.L. (2009). Establishing Aversive, but not Safe, Taste Memories Requires Lateralized Pontine-Cortical Connections. *Behavioural Brain Research*, 197 (2), 356-363.

- Clarke A. & File S.E. (1982). Effects of ACTH, benzodiazepines and 5-HT antagonists on escape from periaqueductal grey stimulation in the rat. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 6 (1), 27-35.
- Clarke P.B. & Kumar R. (1984). Effects of nicotine and d-amphetamine on intracranial self-stimulation in a shuttle box test in rats. *Psychopharmacology*, 84 (1), 109-114.
- Clascá F., Llamas A. & Reinoso-Suárez F. (1997). Insular cortex and neighboring fields in the cat: a redefinition based on cortical microarchitecture and connections with the thalamus. *The Journal of comparative Neurology*, 384, 456-482.
- Clavier, R, M. 1976. Brain stem self-stimulation: catecholamine or non-catecholamine mediation. En: Wauquier A. & Rolls E.T. (Eds.). *Brain-stimulation reward*. North-Holland Publishing Company. pp. 239-250.
- Cobos A., Lima D., Almeida A. & Tavares I. (2003). Brain afferents to the lateral caudal ventrolateral medulla: a retrograde and anterograde tracing study in the rat. *Neuroscience*, 120, 485-498.
- Coffey R.J. (2001). Deep brain stimulation for chronic pain: results of two multicenter trials and a structured review. *Pain Medicine*, 2, 183-92.
- Cohen C., Perrault G. & Sanger D.J. (1997a). Evidence for the involvement of dopamine receptors in ethanol-induced hyperactivity in mice. *Neuropharmacology*, 36 (8), 1099-1108.
- Cohen C., Sanger D.J. & Perrault G. (1997b). Characterization of the discriminative stimulus produced by the dopamine antagonist tiapride. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 283 (2), 566-573.
- Coimbra N.C. & Brandão M.L. (1997). Effects of 5-HT₂ receptors blockade on fear-induced analgesia elicited by electrical stimulation of the deep layers of the superior colliculus and dorsal periaqueductal gray. *Behavioural Brain Research*, 87 (1), 97-103.
- Coimbra N.C., Eichenberger G.C., Gorchinski R.T. & Maisonnette S. (1996). Effects of the blockade of opioid receptor on defensive reactions elicited by electrical stimulation within the deep layers of the superior colliculus and DPAG. *Brain Research*, 736 (1-2), 348-352.
- Coimbra N.C., Osaki M.Y., Eichenberger G.C., Ciscato J.G. Jr., Jucá C.E. & Biojone C.R. (2000). Effects of opioid receptor blockade on defensive behavior elicited by electrical stimulation of the aversive substrates of the inferior colliculus in *Rattus norvegicus* (Rodentia, Muridae). *Psychopharmacology*, 152 (4), 422-430.
- Coimbra N.C., Tomaz C. & Brandão M.L. (1992). Evidence for the involvement of serotonin in the antinociception induced by electrical or chemical stimulation of the mesencephalic tectum. *Behavioural Brain Research*, 50 (1-2), 77-83.
- Coizet V., Dommett E.J., Klop E.M., Redgrave P. & Overton P.G. (2010). The parabrachial nucleus is a critical link in the transmission of short latency nociceptive information to midbrain dopaminergic neurons. *Neuroscience*, 168 (1), 263-272.
- Contarino A., Zanotti A., Drago F., Natolino F., Lipartiti M. & Giusti P. (1997). Conditioned place preference: no tolerance to the rewarding properties of morphine. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 355 (5), 589-594.
- Contet C., Filliol D., Matifas A. & Kieffer B.L. (2008). Morphine-induced analgesic tolerance, locomotor sensitization and physical dependence do not require modification of mu opioid receptor, cdk5 and adenylate cyclase activity. *Neuropharmacology*, 54, 475-486.

- Contet C., Kieffer B.L. & Befort K. (2004). Mu opioid receptor: a gateway to drug addiction. *Current Opinion in Neurobiology*, 14, 370-378.
- Contreras M., Ceric F. & Torrealba F. (2007). Inactivation of the interoceptive insula disrupts drug craving and malaise induced by lithium. *Science*, 318, 655-658.
- Coons E.E., Levak M. & Miller N.E. (1965). Lateral hypothalamus: learning of food-seeking response motivated by electrical stimulation. *Science*, 150 (701), 1320-1321.
- Cooper B.R., Howard J.L., Grant L.D., Smith R.D. & Breese G.R. (1974). Alteration of avoidance and ingestive behavior after destruction of central catecholamine pathways with 6-hydroxydopamine. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 2, 639-349.
- Corbit L.H. & Balleine B.W. (2005). Double dissociation of basolateral and central amygdala lesions on the general and outcome-specific forms of pavlovian-instrumental transfer. *The Journal of Neuroscience*, 25 (4), 962-970.
- Corbit L.H. & Janak P.H. (2007a). Ethanol-associated cues produce general pavlovian-instrumental transfer. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 31 (5), 766-774.
- Corbit L.H. & Janak P.H. (2007b). Inactivation of the lateral but not medial dorsal striatum eliminates the excitatory impact of pavlovian stimuli on instrumental responding. *The Journal of Neuroscience*, 27 (51), 13977-13981.
- Corbit L.H., Janak P.H. & Balleine B.W. (2007). General and outcome-specific forms of pavlovian-instrumental transfer: the effect of shifts in motivational state and inactivation of the ventral tegmental area. *European Journal of Neuroscience*, 26, 3141-3149.
- Cota D., Tschöp M.H., Horvath T.L. & Levine A.S. (2006). Cannabinoids, opioids and eating behavior: The molecular face of hedonism?. *Brain Research Reviews*, 51, 85-107.
- Cox L.S. & Tiffany S.T. (1997). Associative and nonassociative tolerance: the effects of dose and interdose interval. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 57 (1-2), 31-36.
- Craig A.D. (2002). How do you feel? Interoception: the sense of the physiological condition of the body. *Nature Reviews. Neuroscience*, 3 (8), 655-666.
- Craig A.D. (2009). How do you feel -now? The anterior insula and human awareness. *Nature Reviews. Neuroscience*, 10 (1), 59-70.
- Craig A.D. (2010). The sentient self. *Brain Structure & Function*, 214 (5-6), 563-577.
- Crain S.M. & Sehn K. (2007). Naloxone rapidly evokes endogenous kappa opioid receptor-mediated hyperalgesia in naïve mice pretreated briefly with GM1 ganglioside or in chronic morphine-dependent mice. *Brain Research*, 1167, 31-41.
- Crawshaw L.I. & Carlisle H.J. (1974). Thermoregulatory effects of electrical brain stimulation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 87 (3), 440-448.
- Crow T. J. (1976). Specific monoamine systems as reward pathways: Evidence for the hypothesis that activation of the ventral mesencephalic dopaminergic neurones and noradrenergic neurones of the locus coeruleus complex will support self-stimulation responding. En: Wauquier A. & Rolls E.T. (Eds.). *Brain-stimulation reward*. North-Holland Publishing Company. pp 211-237.
- Crowder W.F. & Hutto C.W. (1992a). Operant place conditioning measures examined using morphine reinforcement. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 41, 825-835.

- Crowder W.F. & Hutto C.W. (1992b). Operant place conditioning measures examined using two nondrug reinforcers. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 41, 817-824.
- Cruz S.L., Villarreal J.E., Volkow N.D. (1996). Further evidence that naloxona acts as an inverse opiate agonist: Implications for drug dependence and withdrawal. *Life Science*, 58 (26), 381-389.
- Cubero I. & Puerto A. (2000). Lateral parabrachial lesions impair intraperitoneal but not intraventricular methylscopolamine-induced taste aversion learning. *Brain Research*, 871 (1), 113-119.
- Cubero I., Lopez M., Navarro M. & Puerto A. (2001). Lateral parabrachial lesions impair taste aversion learning induced by blood-borne visceral stimuli. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 69 (1-2), 157-163.
- Cubero I., Thiele T.E. & Bernstein I.L. (1999). Insular cortex lesions and taste aversion learning: effects of conditioning method and timing of lesion. *Brain Research*, 839 (2), 323-330.
- Cunningham C.L. & Noble C. (1992). Conditioned activation induced by ethanol: role in sensitization and conditioned place preference. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 43, 307-313.
- Cunningham C.L., Clemans J.M. & Fidler T.L. (2002). Injection timing determines whether intragastric ethanol produces conditioned place preference or aversion in mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 72, 659-668.
- Cunningham S.T. & Kelley A.E. (1992). Evidence for opiate-dopamine cross-sensitization in nucleus accumbens: studies of conditioned reward. *Brain Research Bulletin*, 29, 675-680.
- D'Anci K.E. (1999). Tolerance to morphine-induced antinociception is decreased by chronic sucrose or polycose intake. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 63 (1), 1-11.
- D'Angio M., Serrano A., Rivy J.P. & Scatton B. (1987). Tail-pinch stress increases extracellular DOPAC levels (as measured by in vivo voltammetry) in the rat nucleus accumbens but not frontal cortex: antagonism by diazepam and zolpidem. *Brain Research*, 409, 169-174.
- Dacher M. & Nugent F.S. (2010). Morphine-induced modulation of LTD at GABAergic synapses in the ventral tegmental area. *Neuropharmacology*, *In press*.
- Dalley J.W., Fryer T.D., Brichard L., Robinson E.S.J., Theobald D.E.H., Lääne K., Peña Y., Murphy E.R., Shah Y., Probst K., Abakumova I., Aigbirhio F.I., Richards H.K., Hong Y., Baron J.C., Everitt B.J. & Robbins T.W. (2007). Nucleus accumbens D2/3 receptors predict trait impulsivity and cocaine reinforcement. *Science*, 315 (2), 1267-1270.
- Daniel A.M., Ortega L.A. & Papini M.R. (2009). Role of the opioid system in incentive downshift situations. *Neurobiology of Learning and Memory*, 92 (3), 439-450.
- Dave J.R., Anderson S.M., Saviolakis G.A., Mougey E.H., Bauman R.A. & Kant G.J. (2000). Chronic sustained stress increases levels of anterior pituitary prolactin mRNA. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 67, 423-431.
- Davern P.J. & McKinley M.J. (2010). Forebrain regions affected by lateral parabrachial nucleus serotonergic mechanisms that influence sodium appetite. *Brain Research*, 1339, 41-48.
- David V., Matifas A., Gavello-Baudy S., Decorte L., Kieffer B.L. & Cazala P. (2008). Brain regional Fos expression elicited by the activation of mu- but not delta-opioid receptors of the ventral tegmental area: evidence for an implication of the ventral thalamus in opiate reward. *Neuropsychopharmacology*, 33 (7), 1746-1759.

- Davidson A.B. & Weidley E. (1976). Differential effects of neuroleptic and other psychotropic agents on acquisition of avoidance in rats. *Life Sciences*, 18 (11), 1279-1284.
- Davis B.J. (1991). The ascending gustatory pathway: a Golgi analysis of the medial and lateral parabrachial complex in the adult hamster. *Brain Research Bulletin*, 27 (1), 63-73.
- Davis C.M. & Riley A.L. (2010). Conditioned taste aversion learning. Implications for animal models of drug abuse. *Annals of New York Academy of Science*, 1187, 247-275.
- Davis C.M., Rice K.C. & Riley A.L. (2009). Opiate-agonist induced taste aversion learning in the Fischer 344 and Lewis inbred rat strains: Evidence for differential mu opioid receptor activation. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 93 (4), 397-405
- Dawson T.M., Gehlert D.R., McCabe R.T., Barnett A. & Wamsley J.K. (1986). D-1 dopamine receptors in the rat brain: a quantitative autoradiographic analysis. *The Journal of Neuroscience*, 6 (8), 2352-2365.
- Day J.J., Wheeler R.A., Roitman M.F. & Carelli R.M. (2006). Nucleus accumbens neurons encode Pavlovian approach behaviours: evidence from an autoshaping paradigm. *European Journal of Neuroscience*, 23, 1341-1351.
- de Araujo I.E., Rolls E.T., Kringelbach M.L., McGlone F. & Phillips N. (2003). Taste-olfactory convergence, and the representation of the pleasantness of flavour, in the human brain. *European Journal of Neuroscience*, 18 (7), 2059-2068.
- De Groot J. (1959): The Rat Forebrain in stereotaxic coordinates. *Verhandelingen der Koninklijke Nederlandsche Akademie van Wetenschappen, Afdeling Natuurkunde. Tweede Reeks*, 52, 1-40.
- De la Calle S. & Saper C.B. (2000). Calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity marks putative visceral sensory pathways in human brain. *Neuroscience*, 100 (1), 115-130.
- De la Torre M.L. & Agüero A. (2008). The role of the dorsal-most part of the lateral parabrachial nucleus in the processing of hypertonic NaCl using different conditioned flavor avoidance paradigms. *Experimental Brain Research*, 186 (3), 481-491.
- De la Torre M.L. & Agüero A. (2009). The role of the medial-external subnucleus of the medial parabrachial nucleus in hypertonic NaCl-induced concurrent and delayed-sequential flavor avoidance learning. *Experimental Brain Research*, 194 (2), 207-218.
- De Vry J., Donselaar I. & Van Ree J.M. (1989). Food deprivation and acquisition of intravenous cocaine self-administration in rats: effects of naltrexone and haloperidol. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 251 (2), 735-740.
- Delamater A.R., Sclafani A. & Bodnar R. (2000). Pharmacology of sucrose-reinforced place-preference conditioning: Effects of Naltrexone. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 65 (4), 697-704.
- Delgado J.M. & Anand B.K. (1953). Increase of food intake induced by electrical stimulation of the lateral hypothalamus. *American Journal of Physiology*, 172 (1), 162-168.
- Delgado J.M., Roberts W.W., & Miller N.E. (1954). Learning motivated by electrical stimulation of the brain. *American Journal of Physiology*, 179, 587-593.
- Deminière J.M., Piazza P.V., Guegan G., Abrous N., Maccari S., Le Moal M. & Simon H. (1992). Increased locomotor response to novelty and propensity to intravenous amphetamine self-administration in adult offspring of stressed mothers. *Brain Research*, 586, 135-139.

- Denbleyker M., Nicklous D.M., Wagner P.J., Ward H.G. & Simansky K.J. (2009). Activating mu-opioid receptors in the lateral parabrachial nucleus increases c-Fos expression in forebrain areas associated with caloric regulation, reward and cognition. *Neuroscience*, 162 (2), 224-233.
- Depaulis A., Bandler R. & Vergnes M. (1989). Characterization of pretentorial periaqueductal gray matter neurons mediating intraspecific defensive behaviors in the rat by microinjections of kainic acid. *Brain Research*, 486 (1), 1211-1232.
- Depoortere R., Di Scala G., Angst M.J. & Sandner G. (1990a). Differential pharmacological reactivity of aversion induced by stimulation of periaqueductal gray or mesencephalic locomotor region. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 37 (2), 311-316.
- Depoortere R., Sandner G. & Di Scala G. (1990b). Aversion induced by electrical stimulation of the mesencephalic locomotor region in the intact and freely moving rat. *Physiology & Behavior*, 47 (3), 561-567.
- DeSalles A.A.F., Katayama Y., Becker D.P. & Hayes R.L. (1985). Pain suppression induced by electrical stimulation of the pontine parabrachial region. *Journal of Neurosurgery*, 62, 397-407.
- Desbois C. & Villanueva L. (2001). The organization of lateral ventromedial thalamic connections in the rat: a link for the distribution of nociceptive signal to widespread cortical regions. *Neuroscience*, 102 (4), 885-898.
- Deslandes P.N., Pache D.M., Buckland P. & Sewell R.D.E. (2002). Morphine, cocaine and antidepressant induced motivational activity and midbrain dopaminergic neurotransmission. *European Journal of Pharmacology*, 453, 223-229.
- Dettmar P.W., Cowan A. & Walter C.S. (1978). Naloxone antagonizes behavioral effects of d-amphetamine in mice and rats. *Neuropharmacology*, 17 (12), 1041-1044.
- Deutch A.Y., Tam S. & Roth R.H. (1985). Footshock and conditioned stress increase 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) in the ventral tegmental area but not substantia nigra. *Brain Research*, 333, 143-146.
- Deutsch J.A. & Deutsch D. (1973). Learning and intracranial self-stimulation. En: Deutsch J.A. & Deutsch D. (Ed.). *Physiological Psychology*. The Dorsey Press. Cap. 14. pp. 504-550.
- Deutsch J.A. & DiCara L. (1967). Hunger and extinction in intracranial self-stimulation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 63 (2), 344-347.
- Deutsch J.A., Adams D.W. & Metzner R.J. (1964). Choice of intracranial stimulation as a function of delay between stimulations and strength of competing drive. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 57, 241-243.
- Di Chiara G. & Bassareo V. (2007). Reward system and addiction: what dopamine does and doesn't do. *Current Opinion in Pharmacology*, 7 (1), 69-76.
- Di Chiara G. & Imperato A. (1988). Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *PANS*, 85 (14), 5274-5278.
- Di Chiara G., Loddo P. & Tanda G. (1999). Reciprocal changes in prefrontal and limbic dopamine responsiveness to aversive and rewarding stimuli after chronic mild stress: implications for the psychobiology of depression. *Biological Psychiatry*, 46 (12), 1624-1633.

- Di Ciano P. & Everitt B.J. (2004). Conditioned reinforcing properties of stimuli paired with self-administered cocaine, heroin or sucrose: implications for the persistence of addictive behaviour. *Neuropharmacology*, 47, 202-213.
- Di Ciano P., Underwood R.J., Hagan J.J. & Everitt B.J. (2003). Attenuation of cue-controlled cocaine-seeking by a selective D3 dopamine receptor antagonist SB-277011-A. *Neuropsychopharmacology*, 28 (2), 329-338.
- Di Lorenzo P.M. & Monroe S. (1992). Corticofugal input to taste-responsive units in the parabrachial pons. *Brain Research Bulletin*, 29 (6), 925-930.
- Di Lorenzo P.M., Platt D. & Victor J.D. (2009). Information processing in the parabrachial nucleus of the pons. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1170, 365-371.
- Di Scala G. & Sandner G. (1989). Conditioned place aversion produced by FG 7142 is attenuated by haloperidol. *Psychopharmacology*, 99, 176-180.
- Diana M., Muntoni A.L., Pistis M., Melis M. & Gessa G.L. (1999). Lasting reduction in mesolimbic dopamine neuronal activity alter morphine withdrawal. *European Journal of Neuroscience*, 11, 1037-1041.
- Diana M., Pistis M. Muntoni A. & Gessa G. (1995). Profound decrease of mesolimbic dopaminergic neuronal activity in morphine withdrawn rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 272 (2), 781-785.
- Díaz A., Pazos A., Flórez J. & Hurlé M.A. (2000). Autoradiographic mapping of μ -opioid receptors during opiate tolerance and supersensitivity in the rat central nervous system. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 362, 101-109.
- Dick T.E., Bellingham M.C. & Richter D.W. (1994). Pontine respiratory neurons in anesthetized cats. *Brain Research*, 636, 259-269.
- Ding Y., Kaneko T., Nomura S. & Mizuno N. (1996). Immunohistochemical localization of μ -opioid receptors in the central nervous system of the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 367, 375-402.
- Diotte M., Bielajew C., Miguelez M. & Miliaressis E. (2001). Factors that influence the persistence of stimulation-induced aversion. *Physiology & Behavior*, 72 (5), 661-667.
- Diotte M., Miguelez M., Miliaressis E. & Bielajew C. (2000). Interactions between rewarding lateral hypothalamic and aversive nucleus reticularis gigantocellularis stimulation. *Behavioural Brain Research*, 116 (2), 149-156.
- Dobolyi A., Irwin S., Makara G., Usdin T.B. & Palkovits, M. (2005). Calcitonin gene-related peptide-containing pathways in the rat forebrain. *The Journal of Comparative Neurology*, 489, 92-119.
- Doherty M.D. & Gratton A. (1997). NMDA receptors in nucleus accumbens modulate stress-induced dopamine release in nucleus accumbens and ventral tegmental area. *Synapse*, 26, 225-234.
- Domino E.F., Wilson A.E. & Olds M.E. (1975). Relation of rat brain acetylcholine levels to duration of self-stimulation and escape behavior. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 3 (1), 103-107.
- Drewnowski A. (1997). Taste Preferences and Food Intake. *Annual Review of Nutrition*, 17, 237-253.
- Drugan R.C., Basile A.S., Ha J.H., Healy D. & Ferland R.J. (1997). Analysis of the importance of controllable versus uncontrollable stress on subsequent behavioral and physiological functioning. *Brain Research Protocols*, 2, 69-74.

- Duarte C., Lefebvre C., Chaperon F., Hamon M. & Thiébot M.H. (2003). Effects of a dopamine D3 receptor ligand, BP 897, on acquisition and expression of food-, morphine-, and cocaine-induced conditioned place preference, and food-seeking behavior in rats. *Neuropsychopharmacology*, 28 (11), 1903-1915.
- Duncan G.H., Kupers R.C., Marchand S., Villemure J.G., Gybels J.M. & Bushnell M.C. (1998). Stimulation of human thalamus for pain relief: possible modulatory circuits revealed by positron emission tomography. *Journal of Neurophysiology*, 80, 3326-3330.
- Dunkley P., Wise R.G., Fairhurst M., Hobden P., Aziz Q., Chang L. & Tracey I. (2005). A comparison of visceral and somatic pain processing in the human brainstem using functional magnetic resonance imaging. *The Journal of Neuroscience*, 25 (32), 7333-7341.
- Dupont S., Boullieret V., Habsoun D., Semah F & Baulac M. (2003). Functional anatomy of the insula: new insights from imaging. *Surgical and Radiologic Anatomy*, 25, 113-119.
- Dutschmann M., Guthmann A. & Herbert H. (1998). NMDA receptor subunit NR1-immunoreactivity in the rat pons and brainstem and colocalization with Fos induced by nasal stimulation. *Brain Research*, 809 (2), 221-230.
- Duttaroy A. P. & Yoburn B.C. (1995). The effect of intrinsic efficacy on opioid tolerance. *Anesthesiology*, 82 (5), 1226-1236.
- Duvauchelle C.L. & Ettenberg A. (1991). Haloperidol attenuates conditioned place preferences produced by electrical stimulation of the medial prefrontal cortex. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 38, 645-650.
- Duvauchelle C.L., Fleming S.M. & Kornetsky C. (1996). Involvement of delta- and mu-opioid receptors in the potentiation of brain-stimulation reward. *European Journal of Pharmacology*, 316 (2-3), 137-143.
- Duvauchelle C.L., Fleming S.M. & Kornetsky C. (1997). DAMGO and DPDPE facilitation of brain stimulation reward thresholds is blocked by the dopamine antagonist cis-flupenthixol. *Neuropharmacology*, 36 (8), 1109-1114.
- Dymshitz J. & Lieblich I. (1987). Opiate reinforcement and naloxone aversion, as revealed by place preference paradigm, in two strains of rats. *Psychopharmacology*, 92, 473-477.
- Easterling K.W. & Holtzman S.G. (2004). In rats, acute morphine dependence results in antagonist-induced response suppression of intracranial self-stimulation. *Psychopharmacology*, 175 (3), 287-295.
- Easterling K.W., Plovnick R.M. & Holtzman S.G. (2000). Acute opioid but not benzodiazepine dependence in rats responding for intracranial self-stimulation. *Psychopharmacology*, 148 (3), 263-271.
- Eckhardt K., Nevo I., Levy R., Mikus G., Eichelbaum M. & Vogel Z. (2000). Morphine-related metabolites differentially activate adenylyl cyclase isozymes after acute and chronic administration. *FEBS Letters*, 470, 309-314.
- Edwards G. L. & Ritter R. C. (1989). Lateral parabrachial lesions attenuate ingestive effects of area postrema lesions. *American Journal of Physiology*, 256, R306-R312.
- Edwards S., Whisler K.N., Fuller D.C. Orsulak P.J. & Self D.W. (2007). Addiction-related alterations in D₁ and D₂ dopamine receptor behavioural responses following chronic cocaine self-administration. *Neuropsychopharmacology*, 32, 354-366.
- Egan G., Silk T., Zamarripa F., Williams J., Federico P., Cunnington R., Carabott L., Blair-West J., Shade R., McKinley M., Farrell M., Lancaster J., Jackson G., Fox P. & Denton D. (2003). Neural correlates of the emergence of consciousness of thirst. *PNAS*, 100 (25), 15241-15246.

- Ehrman R., Ternex J., O'Brien C.P. & McLellan A.T. (1992). Conditioned tolerance in human opiate addicts. *Psychopharmacology*, 108, 218-224.
- Eitan S., Bryant C.D., Saliminejad N.S., Yang Y.C., Vojdani E., Keith D., Polakiewicz R. & Evans C.J. (2003). Brain region-specific mechanisms for acute morphine-induced mitogen-activated protein kinase modulation and distinct patterns of activation during analgesic tolerance and locomotor sensitization. *The Journal of Neuroscience*, 23 (23), 8360-8369.
- Ek M., Arias C., Sawchenko P. & Ericsson-Dahlstrand A. (2000). Distribution of the EP3 prostaglandin E(2) receptor subtype in the rat brain: relationship to sites of interleukin-1-induced cellular responsiveness. *The Journal of Comparative Neurology*, 428 (1), 5-20.
- Elias C.F., Kelly J.F., Lee C.E., Ahima R.S., Drucker D.J., Saper C.B. & Elmquist J.K. (2000). Chemical characterization of leptin-activated neurons in the rat brain. *The Journal of Comparative Neurology*, 423 (2), 261-281.
- Eliav E., Herzberg U. & Caudle R.M. (1999). The kappa opioid agonist GR89696 blocks hyperalgesia and allodynia in rat models of peripheral neuritis and neuropathy. *Pain*, 79, 255-264.
- Ellingsen E. & Agmo A. (2004). Sexual-incentive motivation and paced sexual behavior in female rats after treatment with drugs modifying dopaminergic neurotransmission. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 77, 431-445.
- Elliot R., Friston K.J. & Dolan R.J. (2000). Dissociable neural responses in human reward systems. *The Journal of Neuroscience*, 20, 6159-6165.
- Elmquist J.K., Ahima R.S., Maratos-Flier E., Flier J.S. & Saper C.B. (1997). Leptin Activates Neurons in Ventrobasal Hypothalamus and Brainstem. *Endocrinology*, 138 (2), 839-842.
- Elmquist J.K., Maratos-Flier E., Saper C.B. & Flier J.S. (1998). Unraveling the central nervous system pathways underlying responses to leptin. *Nature Neuroscience*, 1 (6), 445-450.
- Emmanouil D.E. & Quock R.M. (1990). Effects of benzodiazepine agonist, inverse agonist and antagonist drugs in the mouse staircase test. *Psychopharmacology*, 102 (1), 95-97.
- Engblom D., Ek M., Hallbeck M., Ericsson-Dahlstrand A. & Blomqvist A. (2000). Distribution of prostaglandin EP(3) and EP(4) receptor mRNA in the rat parabrachial nucleus. *Neuroscience Letters*, 281 (2-3), 163-166.
- Engström L., Engblom D., Ortegren U., Mackerlova L., Paues J. & Blomqvist A. (2001). Preproenkephalin mRNA expression in rat parabrachial neurons: relation to cells activated by systemic immune challenge. *Neuroscience Letters*, 316 (3), 165-168.
- Enoch M.A. (2008). The role of GABA(A) receptors in the development of alcoholism. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 90 (1), 95-104.
- Escobar M.L. & Bermúdez-Rattoni F. (2000). Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention. *Brain Research*, 852, 208-212.
- Ettenberg A. & Devauchelle C.L. (1988). Haloperidol blocks the conditioned place preferences induced by rewarding brain stimulation. *Behavioral Neuroscience*, 102 (5), 687-691.
- Ettenberg A. & White N. (1981). Pimozide attenuates conditioned taste preferences induced by self-stimulation in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 15, 915-919.

- Ettenberg A., Koob G.F. & Bloom F.E. (1980). Response artifact in the measurement of neuroleptic-induced anhedonia. *Science*, 213, 357-359.
- Everitt B.J. & Robbins T.W. (2005). Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nature Neuroscience*, 8, 1481-1489.
- Everitt B.J. & Wolf M.E. (2002). Psychomotor stimulant addiction: a neural systems perspective. *The Journal of Neuroscience*, 22 (9), 3312-3320.
- Everitt B.J. (1990). Sexual motivation: A neural and behavioural analysis of the mechanisms underlying appetitive and copulatory responses of male rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 14, 217-232.
- Everitt B.J., Dickinson A. & Robbins T.W. (2001). The neuropsychological basis of addictive behaviour. *Brain Research Reviews*, 36, 129-138.
- Faustman W.O. & Fowler S.C. (1981). Use of operant response duration to distinguish the effects of haloperidol from nonreward. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 15, 327-329.
- Fay R. & Kubin L. (2000). Pontomedullary distribution of 5-HT_{2A} receptor-like protein in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 418 (3), 323-345.
- Fenton H.M. & Liebman J.M. (1982). Self-stimulation response decrement patterns differentiate clonidine, baclofen and dopamine antagonists from drugs causing performance deficit. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 17 (6), 1207-1212.
- Fenu S., Bassareo V. & DiChiara G. (2001). A role for dopamine D1 receptors of the nucleus accumbens shell in conditioned taste aversion learning. *The Journal of Neuroscience*, 21 (17), 6897-6904.
- Fenu S., Rivas E. & DiChiara G. (2005). Differential role of dopamine in drug- and lithium-conditioned saccharin avoidance. *Physiology & Behavior*, 85, 37-42.
- Fernández-Espejo, E. (2002). Bases neurológicas de la drogadicción. *Revista de neurología*, 34 (7), 659-664.
- Ferrer J.M., Sanguinetti A.M., Vives F. & Mora F. (1983). Effects of agonists and antagonists of D1 and D2 dopamine receptors on self-stimulation of the medial prefrontal cortex in the rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 19 (2), 211-217.
- Ferssiwi A., Cardo B. & Velle L. (1987). Electrical self-stimulation in the parabrachial area is depressed after ibotenic acid lesion of the lateral hypothalamus. *Behavioral Brain Research*, 25, 109-116.
- Filbey F.M., Schacht J.P., Myers U.S., Chavez R.S. & Hutchison K.E. (2009). Marijuana craving in the brain. *PNAS*, 106 (31), 13016-13021.
- Flagel S.B., Clark J.J., Robinson T.E., Mayo L., Czuj A., Willuhn I., Akers C.A., Clinton S.M., Phillips P.E. & Akil H. (2011). A selective role for dopamine in stimulus-reward learning. *Nature*, 469 (7328), 53-57.
- Fletcher P.J. & Higgins G.A. (1997). Differential effects of ondansetron and alpha-flupenthixol on responding for conditioned reward. *Psychopharmacology*, 134 (1), 64-72.
- Flint A.J., Koszycki D., Vaccarino F.J., Cadieux A., Boulenger J.P. & Bradwejn J. (1998). Effect of aging on cholecystokinin-induced panic. *American Journal of Psychiatry*, 155 (2), 283-285.
- Flynn F.G., Benson D.F. & Ardila A. (1999). Anatomy of the insula-functional and clinical correlates. *Aphasiology*, 13 (1), 55-78.

- Forget B., Pushparaj A. & Le Foll B. (2010). Granular insular cortex inactivation as a novel therapeutic strategy for nicotine addiction. *Biological Psychiatry*, 68 (3), 265-271.
- Fouriez G. & Wise R.A. (1976). Pimozide-induced extinction of intracranial self-stimulation: response patterns rule out motor or performance deficits. *Brain Research*, 103, 377-380.
- Fouriez G., Hansson P. & Wise R.A. (1978). Neuroleptic-induced attenuation of brain stimulation reward in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 92 (4), 661-671.
- Frank R.A., Manderscheid P.Z., Panicker S., Williams H.P. & Kokoris D. (1992). Cocaine euphoria, dysphoria, and tolerance assessed using drug-induced changes in brain-stimulation reward. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 42, 771-779.
- Franklin K.B.J. & Robertson A. (1980). 5HT blockade and the stimulant effects of D- and L-amphetamine: No interaction in self-stimulation of prefrontal cortex, hypothalamus, or dorsal tegmentum. Unexpected lethality in hippocampal sites. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 13, 365-370.
- Franklin K.B.J. (1998). Analgesia and Abuse Potential: An Accidental Association or a Common Substrate?. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 59 (4), 993-1002.
- Fuchs H., Nagel J. & Hauber W. (2005). Effects of physiological and pharmacological stimuli on dopamine release in the rat globus pallidus. *Neurochemistry International*, 47, 474-481.
- Fudge J.L., Breitbart M.A., Danish M. & Pannoni V. (2005). Insular and gustatory inputs to the caudal ventral striatum in primates. *The Comparative Neurology*, 490 (2), 101-118.
- Fulwiler C.E. & Saper C.B. (1984). Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Research Reviews*, 7, 229-259.
- Gaiardi M., Bartoletti M., Bacchi A., Gubellini C., Costa M. & Babbini M. (1991). Role of repeated exposure to morphine in determining its affective properties: place and taste conditioning studies in rats. *Psychopharmacology*, 103, 183-186.
- Gallistel C.R. & Davis A.J. (1983). Affinity for the dopamine D2 receptor predicts neuroleptic potency in blocking the reinforcing effect of MFB stimulation. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 19 (5), 867-872.
- Gallistel C.R. & Karras D. (1984). Pimozide and amphetamine have opposing effects on the reward summation function. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 20 (1), 73-77.
- Gallistel C.R. (1983). Self-stimulation: The neurophysiology of reward and motivation. En: Deutsch A. (Ed.). *The physiological basis of memory*. New York: Academic Press.
- Gallistel C.R., Leon M., Lim B.T., Sim J.C. & Waraczynski M. (1996). Destruction of the medial forebrain bundle caudal to the site of stimulation reduces rewarding efficacy but destruction rostrally does not. *Behavioral Neuroscience*, 110 (4), 766-790.
- Gallo M., Arnedo M., Agüero A. & Puerto A. (1988). Electrical intracerebral stimulation of the area postrema on taste aversion learning. *Behavioral Brain Research*, 30, 289-296.
- Gallo M., Arnedo M., Agüero A. & Puerto A. (1990). The functional relevance of the area postrema in drug-induced aversion learning. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 35 (3), 543-551.
- Gallo M., Arnedo M., Agüero A. & Puerto A. (1991). Participation of the area postrema in learned aversions induced by body rotation. *Behavioral Brain Research*, 42 (1), 13-23.

- Garavan H. (2010). Insula and drug cravings. *Brain Structure & Function*, 214 (5-6), 593-601.
- García J. (1989). Food for Tolman: Cognition and Cathexis in Concert. En: Archer et al. *Aversion, avoidance and anxiety. Perspectives on aversively motivated behavior*. LEA: 45-85.
- García R. (2009). *Preferencias comportamentales inducidas por estimulación eléctrica intracerebral: Características funcionales y farmacológicas del eje Parabraquial-Insular*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, España.
- Garris P.A., Kilpatrick M., Bunin M.A., Michael C., Walker Q.D. & Wightman R.M. (1999). Dissociation of dopamine release in the nucleus accumbens from intracranial self-stimulation. *Nature*, 398, 67-69.
- Gasparini S., de Luca L.A. Jr., Colombari D.S., de Paula P.M., Barbosa S.P. & Menani J.V. (2009). Adrenergic mechanisms of the Kölliker-Fuse/A7 area on the control of water and sodium intake. *Neuroscience*, 164 (2), 370-379.
- Gauriau C. & Bernard J.F. (2002). Pain pathways and parabrachial circuits in the rat. *Experimental Physiology*, 87 (2), 251-258.
- Gautier J.F., Chen K., Uecker A., Bandy D., Frost J., Salbe A.D., Practley R.E., Lawson L., Ravussin E., Reiman E.M. & Tataranni P.A. (1999). Regions of the human brain affected during a liquid-meal taste perception in the fasting state: a positron emission tomography study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 806-810.
- Gendreau P.L., Petitto J.M., Schnauss R., Frantz K.J., Van Hartesveldt C., Gariépy J.L. & Lewis M.H. (1997). Effects of the putative dopamine D3 receptor antagonist PNU 99194A on motor behavior and emotional reactivity in C57BL/6J mice. *European Journal of Pharmacology*, 337 (2-3), 147-145.
- Georges F., Stinus L., Bloch B. & LeMoine C. (1999). Chronic morphine exposure and spontaneous withdrawal are associated with modifications of dopamine receptor and neuropeptide gene expression in the rat striatum. *European Journal of Neuroscience*, 11, 481-490.
- Geran L.C. & Travers S.P. (2009). Bitter-responsive gustatory neurons in the rat parabrachial nucleus. *Journal of Neurophysiology*, 101 (3), 1598-1612.
- Gerhardt S. & Liebman J.M. (1981). Differential effects of drug treatments on nose-poke and bar-press self-stimulation. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 15 (5), 767-771.
- Gerhardt S., Prowse J. & Liebman J.M. (1982). Anxiolytic drugs selectively increase preferred duration of rewarding brain stimulation in a shuttlebox test. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 16 (5), 795-799.
- Gerrits M.A., Lesscher H.B. & Van Ree J.M. (2003). Drug dependence and the endogenous opioid system. *European Neuropsychopharmacology*, 13, 424-434.
- Gerrits M.A., Ramsey N.F., Wolterink G. & Van Ree J.M. (1994). Lack of evidence for an involvement of nucleus accumbens dopamine D1 receptors in the initiation of heroin self-administration in the rat. *Psychopharmacology*, 114, 486-494.
- Ghiglieri O., Gambarana C., Scheggi S., Tagliamonte A., Willner P. & De Montis M.G. (1997). Palatable food induces an appetitive behaviour in satiated rats which can be inhibited by chronic stress. *Behavioral Pharmacology*, 8 (6-7), 619-628.
- Gibson S., McGeer E.G. & McGeer P.L. (1970). Effect of selective inhibitors of tyrosine and tryptophan hydroxylases on self-stimulation in the rat. *Experimental Neurology*, 27 (2), 283-290.

- Gintzler A.R. & Chakrabarti S. (2006). Post-opioid receptor adaptations to chronic morphine; altered functionality and associations of signalling molecules. *Life Science*, 79, 717-72.
- Gizewski E.R., Krause E., Karama S., Baars A., Senf W. & Forsting M. (2006). There are differences in cerebral activation between females in distinct menstrual phases during viewing of erotic stimuli: A fMRI study. *Experimental Brain Research*, 174 (1), 101-108.
- Glick S.D. & Cox R.S. (1975). Self-administration of haloperidol in rats. *Life Science*, 16, 1041-1046.
- Glick S.D., Weaver L.M. & Meibach R.C. (1982). Asymmetrical effects of morphine and naloxone on reward mechanisms. *Psychopharmacology*, 78 (3), 219-24.
- Godino A., Margatho L.O., Caeiro X.E., Antunes-Rodrigues J. & Vivas L. (2010). Activation of lateral parabrachial afferent pathways and endocrine responses during sodium appetite regulation. *Experimental Neurology*, 221 (2), 275-284.
- Goebel M., Stengel A., Wang L., Coskun T., Alsina-Fernandez J., Rivier J. & Taché Y. (2010). Pattern of Fos expression in the brain induced by selective activation of somatostatin receptor 2 in rats. *Brain Research*, 1351, 150-164
- Gomita Y., Ichimaru Y., Moriyama M., Araki H. & Futagami K. (2003). Effects of anxiolytic drugs on rewarding and aversive behaviors induced by intracranial stimulation. *Acta Medica Okayama*, 57 (3), 95-108.
- Gomita Y., Moriyama M., Ichimaru Y. & Araki Y. (1991). Effects of anxiolytic drugs on escape behavior induced by dorsal central gray stimulation in rats. *Physiology & Behavior*, 49 (1), 125-129.
- Gonzales R.A. & Weiss F. (1998). Suppression of ethanol-reinforced behaviour by naltrexone is associated with attenuation of the ethanol-induced increase in dialysate dopamine levels in the nucleus accumbens. *The Journal of Neuroscience*, 18 (24), 10663-10671.
- Goudie A.J. & Demellweek C. (1980). Naloxone fails to block amphetamine-induced anorexia and conditioned taste aversion. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 32, 653-656.
- Goudie A.J. (1979). Aversive stimulus properties of drugs. *Neuropharmacology*, 18, 971-979.
- Grabus S.D., Glowa J.R. & Riley A.L. (2004). Morphine- and cocaine-induced c-Fos levels in Lewis and Fischer rat strains. *Brain Research*, 998, 20-28.
- Gracy K.N., Dankiewicz L.A. & Koob G.F. (2001). Opiate withdrawal-induced fos immunoreactivity in the rat extended amygdala parallels the development of Conditioned Place Aversion. *Neuropsychopharmacology*, 24 (2), 152-160.
- Graeff F.G., Brandão M.L., Audi E.A. & Schütz M.T. (1986). Modulation of the brain aversive system by GABAergic and serotonergic mechanisms. *Behavioural Brain Research*, 22 (2), 173-180.
- Gramling S.E., Fowler S.C. & Collins K.R. (1984). Some Effects of Pimozide on Nondeprived Rats Licking Sucrose Solutions in an Anhedonia Paradigm. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 21, 617-624.
- Grill H.J. & Norgren R. (1978). The taste reactivity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. *Brain Research*, 143, 263-279.
- Guarraci F.A. & Kapp B.S. (1999). An electrophysiological characterization of ventral tegmental area dopaminergic neurons during differential pavlovian fear conditioning in the awake rabbit. *Behavioral Brain Research*, 99, 169-179.

- Guo N., García M.M., Taylor B.K., Zadina J.E. & Harlan R.E. (2008). Blockade of micro-opioid receptors in the medial thalamus inhibits acquisition, but not expression, of morphine-induced conditioned place preference. *Neuroscience*, 151 (4), 948-954.
- Guthmann A. & Herbert H. (1999a). Expression of N-methyl-D-aspartate receptor subunits in the rat parabrachial and Kölliker-Fuse nuclei and in selected pontomedullary brainstem nuclei. *The Journal of Comparative Neurology*, 415 (4), 501-517.
- Guthmann A. & Herbert H. (1999b). In situ hybridization analysis of flip/flop splice variants of AMPA-type glutamate receptor subunits in the rat parabrachial and Kölliker-Fuse nuclei. *Brain Research. Molecular Brain Research*, 74 (1-2), 145-157.
- Guthmann A., Fritschy J.M., Ottersen O.P., Torp R. & Herbert H. (1998). GABA, GABA transporters, GABA(A) receptor subunits, and GAD mRNAs in the rat parabrachial and Kölliker-Fuse nuclei. *The Journal of Comparative Neurology*, 400 (2), 229-243.
- Gutstein H.B., Thome J.L., Fine J.L., Watson S.J. & Akil H. (1998). Pattern of c-fos mRNA induction in rat brain by acute morphine. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 76 (3), 294-303.
- Gyertyán I. & Sággy K. (2004). Effects of dopamine D3 receptor antagonists on spontaneous and agonist-reduced motor activity in NMRI mice and Wistar rats: comparative study with nafadotride, U 99194A and SB 277011. *Behavioural Pharmacology*, 15 (4), 253-262.
- Gyertyán I., Kiss B., Gál K., Laszlovszky I., Horváth A., Gémesi L.I., Sággy K., Pásztor G., Zájer M., Kapás M., Csongor E.A., Domány G., Tihanyi K. & Szombathelyi Z. (2007). Effects of RGH-237 [N-{4-[4-(3-aminocarbonyl-phenyl)-piperazin-1-yl]-butyl}-4-bromo-benzamide], an orally active, selective dopamine D(3) receptor partial agonist in animal models of cocaine abuse. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 320 (3), 1268-1278.
- Hajnal A. & Norgren R. (2004). Taste pathways that mediate accumbens dopamine release by sapid sucrose. *Physiology & Behavior*, 84, 363-369.
- Hajnal A., Norgren R. & Kovacs P. (2009). Parabrachial coding of sapid sucrose: relevance to reward and obesity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1170, 347-364.
- Hall M.E., Grantham P., Limoli J. & Stewart J.M. (1987). Effects of substance P and neurokinin A (substance K) on motor behavior: unique effect of substance P attributable to its amino-terminal sequence. *Brain Research*, 420 (1), 82-94.
- Halsell C.B. & Travers S.P. (1997). Anterior and posterior oral cavity responsive neurons are differentially distributed among parabrachial subnuclei in rat. *Journal of Neurophysiology*, 78 (2), 920-938.
- Halsell C.B. (1992). Organization of parabrachial nucleus efferents to the thalamus and amygdala in the golden hamster. *The Journal of Comparative Neurology*, 317 (1), 57-78.
- Hamilton A.L., Stellar J.R. & Hart E.B. (1985). Reward, performance, and the response strength method in self-stimulating rats: validation and neuroleptics. *Physiology & Behavior*, 35 (6), 897-904.
- Han Z.S., Gu G.B., Sun C.Q. & Ju G. (1991). Convergence of somatosensory and baroreceptive inputs onto parabrachio-subfornical organ neurons in the rat: an electrophysiological study. *Brain Research*, 566 (1-2), 239-247.
- Hanamori T., Kunitake T., Kato K. & Kannan H. (1998a). Neurons in the posterior insular cortex are responsive to gustatory stimulation of the pharyngolarynx, baroreceptor and chemoreceptor stimulation, and tail pinch in rats. *Brain Research*, 785, 97-106.

- Hanamori T., Kunitake T., Kato K. & Kannan H. (1998b). Responses of neurons in the insular cortex to gustatory, visceral and nociceptive stimuli in rats. *Journal of Neurophysiology*, 79, 2535-2545.
- Hand T.H. & Franklin T.H. (1983). The influence of amphetamine on preference for lateral hypothalamic versus prefrontal cortex of ventral tegmental area self-stimulation. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 18, 696-699.
- Hand T.H., Koob G.F., Stinus L. & Le Moal M. (1988). Aversive properties of opiate receptor blockade: evidence for exclusively central mediation in naïve and morphine-dependent rats. *Brain Research*, 474, 364-368.
- Haney M., Ward A.S., Comer S.D., Foltin R.W. & Fischman M.W. (1999). Abstinence symptoms following oral THC administration to humans. *Psychopharmacology*, 141, 385-394.
- Harris G.C. & Aston-Jones G. (1994). Involvement of D2 dopamine receptors in the nucleus accumbens in the opiate withdrawal syndrome. *Nature*, 371, 155- 157.
- Harrison B.J., Pujol J., Ortiz H., Fornito A., Pantelis C. & Yücel M. (2008). Modulation of brain resting-state networks by sad mood induction. *PLoS One*, 3 (3), e1794.
- Hart C.L., Ward A.S., Haney M., Comer S.D., Foltin R.W. & Fischman M.W. (2002). Comparison of smoked marijuana and oral Δ^9 -tetrahydrocannabinol in humans. *Psychopharmacology*, 164, 407-415.
- Hashimoto K., Obata K. & Ogawa H. (2009). Characterization of parabrachial subnuclei in mice with regard to salt tastants: possible independence of taste relay from visceral processing. *Chemical Senses*, 34 (3), 253-267.
- Havel P.J. (2001). Peripheral signals conveying metabolic information to the brain: short-term and long-term regulation of food intake and energy homeostasis. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*, 226, 963-77.
- Hayakawa T., Zheng J.Q. & Seki M. (1999). Direct parabrachial nuclear projections to the pharyngeal motoneurons in the rat: an anterograde and retrograde double-labeling study. *Brain Research*, 816 (2), 364-374.
- Hayama T. & Ogawa H. (2001). Two loci of the insular cortex project to the taste zone of the nucleus of the solitary tract in rats. *Neuroscience Letters*, 303, 49-52.
- He S., Li N. & Grasing K. (2004). Long-term opiate effects on amphetamine-induced dopamine release in the nucleus accumbens core and conditioned place preference. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 77 (2), 327-335.
- Hecht M., Kober H., Claus D., Hilz M., Vieth J. & Neundörfer B. (1999). The electrical and magnetical cerebral responses evoked by electrical stimulation of the esophagus and the location of their cerebral sources. *Clinical Neurophysiology*, 110, 1435-1444.
- Heikkilä R.E., Orlansky H. & Cohen G. (1975). Studies on the distinction between uptake inhibition and release of (3H)dopamine in rat brain tissue slices. *Biochemical Pharmacology*, 24 (8), 847-852
- Hemby S.E., Co C., Koves T.R., Smith J.E. & Dworkin S.I. (1997). Differences in extracellular dopamine concentrations in the nucleus accumbens during response-dependent and response-independent cocaine administration in the rat. *Psychopharmacology*, 133, 7-16.
- Herberg L.J. (1963). Determinants of extinction in electrical self-stimulation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 56 (4), 686-690.

- Herbert H. & Flügge G. (1995). Distribution of alpha 2-adrenergic binding sites in the parabrachial complex of the rat. *Anatomy and Embryology*, 192 (6), 507-516.
- Herbert H., Moga M.M. & Saper C.B. (1990). Connections of the parabrachial nucleus with the nucleus of the solitary tract and the medullary reticular formation in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 293 (4), 540-580.
- Hermann G.E. & Rogers R.C. (1985). Convergence of vagal and gustatory afferent input within the parabrachial nucleus of the rat. *Journal of Autonomic Nervous System*, 13 (1), 1-17.
- Hermanson O. & Blomqvist A. (1997). Preproenkephalin messenger RNA-expressing neurons in the rat parabrachial nucleus: subnuclear organization and projections to the intralaminar thalamus. *Neuroscience*, 81 (3), 803-812.
- Hermanson O., Telkov M., Geijer T., Hallbeck M. & Blomqvist A. (1998). Preprodynorphin mRNA-expressing neurones in the rat parabrachial nucleus: subnuclear localization, hypothalamic projections and colocalization with noxious-evoked fos-like immunoreactivity. *European Journal of Neuroscience*, 10 (1), 358-367.
- Hernández G. & Shizgal P. (2009). Dynamic changes in dopamine tone during self-stimulation of the ventral tegmental area in rats. *Behavioural Brain Research*, 198 (1), 91-97.
- Hernández G., Breton Y.A., Conover K. & Shizgal P. (2010). At what stage of neural processing does cocaine act to boost pursuit of rewards? *PLoS One*, 5 (11), e15081.
- Hernández G., Haines E., Rajabi H., Stewart J., Arvanitogiannis A. & Shizgal P. (2007). Predictable and unpredictable rewards produce similar changes in dopamine tone. *Behavioral Neuroscience*, 121 (5), 887-895.
- Hernández G., Hamdani S., Rajabi H., Conover K., Stewart J., Andreas A. & Shizgal P. (2006). Prolonged rewarding stimulation of the rat medial forebrain bundle: Neurochemical and Behavioral Consequences. *Behavioral Neuroscience*, 120 (4), 888-904.
- Hernández G., Rajabi H., Stewart J., Arvanitogiannis A. & Shizgal P. (2008). Dopamine tone increases similarly during predictable and unpredictable administration of rewarding brain stimulation at short inter-train intervals. *Behavioral Brain Research*, 188, 227-232.
- Hernández L.L. & Appel J.B. (1980). Effects of pentazocine and other opiates on shock detection in the rat: Involvement of Opiate and Dopamine Receptors. *Psychopharmacology*, 67, 155-163.
- Herz A. (1998). Opioid reward mechanisms: a key role in drug abuse?. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 76 (3), 252-258.
- Herzig V. & Schmidt W.J. (2005). Anti-craving drug acamprosate and anloxone do not reduce expression of morphine conditioned place preference in isolated and group-housed rats. *Neuroscience Letters*, 374, 119-123.
- Hetzenauer A., Corti C., Herdy S., Corsi M., Ferraguti F. & Singewald N. (2008). Individual contribution of metabotropic glutamate receptor (mGlu) 2 and 3 to c-Fos expression pattern evoked by mGlu2/3 antagonism. *Psychopharmacology*, 201 (1), 1-13.
- Hnasko T.S., Sotak B.N. & Palmiter R.D. (2005). Morphine reward in dopamine-deficient mice. *Nature*, 438 (7069), 854-857.

- Ho J., Mannes A.J., Dubner R. & Caudle R.M. (1997). Putative κ -2 opioid agonist are antihyperalgesic in a rat model of inflammation. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 281, 136-141.
- Hoebel B.G. & Thompson R.D. (1969). Aversion to lateral hypothalamic stimulation caused by intragastric feeding or obesity. *The Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 68 (4), 536-543.
- Hoebel B.G. (1976). Brain-stimulation reward and aversion in relation to behavior. En: Wauquier A & Rolls E.T. (Ed.). *Brain-Stimulation Reward*. North-Holland Publishing Company. Cap. 17.
- Hoebel B.G. (1997). Neuroscience and appetitive behavior research: 25 years. *Appetite*, 29 (2), 119-133.
- Hoebel B.G., Avena N.M. & Rada P. (2007). Accumbens dopamine-acetylcholine balance in approach and avoidance. *Current Opinion in Pharmacology*, 7 (6), 617-627.
- Hoebel B.G., Hernández L. & Thompson R.D. (1975). Phenylpropanolamine inhibits feeding, but not drinking, induced by hypothalamic stimulation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 89 (9), 1046- 1052
- Hoffman D.C. & Beninger R.J. (1989). The effects of selective dopamine D1 or D2 receptor antagonists on the establishment of agonist-induced place conditioning in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 33, 273-279.
- Holland P.C. & Gallagher M. (2004). Amygdala-frontal interactions and reward expectancy. *Opinion in Neurobiology*, 14, 148-155.
- Holmer H.K., Rodman J.E., Helmreich D.L. & Parfitt D.B. (2003). Differential effects of chronic escapable versus inescapable stress on male syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) reproductive behavior. *Hormones & Behavior*, 43, 381-387.
- Horger B.A., Shetlon K. & Schenk S. (1990). Preexposure sensitizes rats to the rewarding effects of cocaine. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 37, 707-711.
- Horn C. C. & Friedman M. I. (1998). 2,5-Anhydro-D-Mannitol induces Fos-like immunoreactivity in hindbrain and forebrain: relationship to eating behavior. *Brain Research*, 779 (1-2), 17-25.
- Horvitz J.C. (2000). Mesolimbocortical and nigrostriatal dopamine response to salient non-reward events. *Neuroscience*, 96, 651-656.
- Horvitz J.C., Stewart T. & Jacobs B.L. (1997). Burst activity of ventral tegmental dopamine neurons is elicited by sensory stimuli in the awake cat. *Brain Research*, 759, 251-258.
- Hu S.H., Wei N., Wang Q.D., Yan L.Q., Wei E.Q., Zhang M.M., Hu J.B., Huang M.L., Zhou W.H. & Xu Y. (2008). Patterns of brain activation during visually evoked sexual arousal differ between homosexual and heterosexual men. *American Journal of Neuroradiology*, 29 (10), 1890-1896.
- Huang G.F., Besson J.M. & Bernard J.F. (1993). Morphine depresses the transmission of noxious messages in the spino(trigemino)-ponto-amygdaloid pathway. *European Journal of Pharmacology*, 230, 279-284.
- Huguet G., Aldavert-Vera L., Kádár E., Peña de Ortiz S., Morgado-Bernal I. & Segura-Torres P. (2009). Intracranial self-stimulation to the lateral hypothalamus, a memory improving treatment, results in hippocampal changes in gene expression. *Neuroscience*, 162 (2), 359-374.
- Hull C.L. (1943). *Principles of Behavior*. New York: D. Appleton-Century Co. 422 pp.

- Hunt T. & Amit Z. (1987). Conditioned taste aversion induced by self-administered drugs: Paradox revisited. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 11, 107-130.
- Hurd Y.L., Suzuki M. & Sedvall G. (2001). D1 and D2 dopamine receptor mRNA expression in whole hemisphere sections of the human brain. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 22, 127-137.
- Hurtado M.M., García R. & Puerto A. (2006). Involvement of dopamine in the aversive processing induced by intracranial electrical stimulation. *Chemical Senses*, 31 (8), E51 (ECRO Abstracts).
- Hyman S.E., Malenka R.C. & Nestler E.J. (2006). Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annual Review of Neuroscience*, 29, 565-598.
- Ibañez A., Gleichgerrcht E. & Manes F. (2010). Clinical effects of insular damage in humans. *Brain Structure & Function*, 214 (5-6), 397-410.
- Ichihara K., Nabeshima T. & Kameyama T. (1988). Effects of haloperidol, sulpiride and SCH 23390 on passive avoidance learning in mice. *European Journal of Pharmacology*, 151, 435-442.
- Ichihara K., Nabeshima T. & Kameyama T. (1989). Differential effects of pimozone and SCH 23390 on acquisition of learning in mice. *European Journal of Pharmacology*, 164, 189-195.
- Ichitani Y., Iwasaki T. & Satoh T. (1985). Effects of naloxone and chlordiazepoxide on lateral hypothalamic self-stimulation in rats. *Physiology & Behavior*, 34 (5), 779-782.
- Ikemoto S. & Panksepp J. (1999). The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Research Reviews*, 31, 6-41.
- Imperato A., Angelucci L., Casolini P., Zocchi A. & Puglisi-Allegra S. (1992). Repeated stressful experiences differently affect limbic dopamine release during and following stress. *Brain Research*, 577, 194-199.
- Inoue T., Tsuchiya K. & Koyama T. (1994). Regional changes in dopamine and serotonin activation with various intensity of physical and psychological stress in the rat brain. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 49 (4), 911-920.
- Inui K., Tran T.D., Qiu Y., Wang X., Hoshiyama M. & Kakigi R. (2003). A comparative magnetoencephalographic study of cortical activations evoked by noxious and innocuous somatosensory stimulations. *Neuroscience*, 120, 235-248.
- Ito S. (1992). Multiple projection of vagal non-myelinated afferents to the anterior insular cortex in rats. *Neuroscience Letters*, 148 (1-2), 151-154.
- Ito S.I. (1998). Possible representation of somatic pain in the rat insular visceral sensory cortex: a field potential study. *Neuroscience Letters*, 241, 171-174.
- Ivanová S. & Greenshaw A.J. (1997). Nicotine-induced decreased in VTA electrical self-stimulation thresholds: blockade by haloperidol and mecamylamine but not scopolamine or ondansetron. *Psychopharmacology*, 134 (2), 187-192.
- Iversen L. (2003). Cannabis and the brain. *Brain*, 126, 1252-1270.
- Izenwasser S., Staley J.K., Cohn S. & Mash D.C. (1999). Characterization of kappa-opioid receptor binding in human insular cortex. *Life Sciences*, 65 (9), 857-862.
- Jacobs E.H., Smit A.B., de Vries T.J. & Schoffelmeer A.N. (2003). Neuroadaptive effects of active versus passive drug administration in addiction research. *Trends in Pharmacological Sciences*, 24 (11), 566-573.

- Jacobs E.H., Spijker S., Verhoog C.W., Kamprath K., de Vries T.J., Smit A.B. & Schoffelmeer A.N. (2002). Active heroin administration induces specific genomic responses in the nucleus accumbens shell. *FASEB Journal*, 16 (14), 1961-1963.
- Jaeger T.V. & Van der Kooy D. (1993). Morphine acts in the parabrachial nucleus, a pontine viscerosensory relay, to produce discriminative stimulus effects. *Psychopharmacology*, 110 (1-2), 76-84.
- Jaeger T.V. & Van der Kooy D. (1996). Separate neural substrates mediate the motivating and discriminative properties of morphine. *Behavioral Neuroscience*, 110 (1), 181-201.
- Jasmin L., Burkey A.R., Card J.P. & Basbaum A.I. (1997). Transneuronal labelling of a nociceptive pathway, the Spino-(Trigemino)-Parabrachio-Amigdaloid, in the rat. *The Journal of Neuroscience*, 17 (10), 3751-3765.
- Jasmin L., Burkey A.R., Granato A. & Ohara P.T. (2004). Rostral agranular insular cortex and pain areas of the central nervous system: a tract-tracing study in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 468 (3), 425-440.
- Jenck F., Schmitt P. & Karli P. (1983). Morphine applied to the mesencephalic central gray suppresses brain stimulation induced escape. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 19 (2), 301-308.
- Jenck F., Schmitt P. & Karli P. (1986). Morphine injected into the periaqueductal gray attenuates brain stimulation-induced effects: an intensity discrimination study. *Brain Research*, 378 (2), 274-284.
- Jensen J., McIntosh A.R., Crawley A.P., Mikulis D.J., Remington G. & Kapur S. (2003). Direct activation of the ventral striatum in anticipation of aversive stimuli. *Neuron*, 40, 1251-1257.
- Jia H., Zhang G. & Wan Q. (2005). A GABAergic projection from the central nucleus of the amygdala to the parabrachial nucleus: an ultrastructural study of anterograde tracing in combination with post-embedding immunocytochemistry in the rat. *Neuroscience Letters*, 382, 153-157.
- Jiang M., Alheid G.F., Calandriello T. & McCrimmon D. (2004). Parabrachial-lateral pontine neurons link nociception and breathing. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 143, 215-233.
- Johnson A.K. & Loewy A.D. (1990). Circunventricular organs and their role in visceral functions. In Loewy, A.D. (Ed.): *Central regulation of autonomic functions*. Oxford: O.U.P., pp. 249-267.
- Johnson S.W. & North R.A. (1992). Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. *Journal of Neuroscience*, 12, 483-488.
- Joyce E.M. & Iversen S.D. (1979). The effect of morphine applied locally to mesencephalic dopamine cell bodies on spontaneous motor activity in the rat. *Neuroscience Letter*, 14, 207-212.
- Kaddis F.G., Uretsky N.J. & Wallace L.J. (1995). DNQX in the nucleus accumbens inhibits cocaine-induced conditioned place preference. *Brain Research*, 697, 76-82.
- Kainu T., Honkaniemi J., Gustafsson J.A., Rechartt L. & Pelto-Huikko M. (1993). Co-localization of peptide-like immunoreactivities with glucocorticoid receptor- and Fos-like immunoreactivities in the rat parabrachial nucleus. *Brain Research*, 615 (2), 245-251.
- Kalani M.Y., Kalani M.A., Gwinn R., Keogh B. & Tse V.C. (2009). Embryological development of the human insula and its implications for the spread and resection of insular gliomas. *Neurosurgical Focus*, 27 (2), E2.
- Kalivas P.W. & Abhold R. (1987). Enkephalin release into the ventral tegmental area in response to stress: modulation of mesocorticolimbic dopamine. *Brain Research*, 414, 339-348.

- Kanarek R., Przypek J., D'Anci K.E., Marks-Kaufman R. (1997). Dietary modulation of Mu and Kappa opioid receptor-mediated analgesia. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 58 (1), 43-39.
- Kanarek R.B., Homoleski B.A. & Wiatr C. (2000). Intake of a palatable sucrose solution modifies the actions of spiradoline, a kappa opioid receptor agonist, on analgesia and feeding behaviour in male and female rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 65 (1), 97-104.
- Kandel J.H., Schwartz J.H. & Jessel T.M. (2001). Estados de motivación y adictivos. En: *Principios de Neurociencia*. Madrid: Mac Graw-Hill Interamericana de España. pp. 1007-1012.
- Kang Y. & Lundy R.F. (2009). Terminal field specificity of forebrain efferent axons to brainstem gustatory nuclei. *Brain Research*, 1248, 76-85.
- Karimnamazi H., Travers S.P. & Travers J.B. (2002). Oral and gastric input to the Parabrachial Nucleus of the rat. *Brain Research*, 957, 193-206.
- Karnath H.O. & Baier B. (2010). Right insula for our sense of limb ownership and self-awareness of actions. *Brain. Structure & Function*, 214 (5-6), 411-417.
- Karnath H.O., Baier B. & Nägele T. (2005). Awareness of the functioning of one's own limbs mediated by the insular cortex? *The Journal of Neuroscience*, 25 (31), 7134-7138.
- Katayama Y., Watkins L.R., Becker D.P. & Hayes R.L. (1984). Evidence for involvement of cholinceptive cells of the parabrachial region in environmentally induced nociceptive suppression in the cat. *Brain Research*, 299 (2), 348-353.
- Kearns D.N. & Weiss S.J. (2004). Sign-tracking (autoshaping) in rats: A comparison of cocaine and food as unconditioned stimuli. *Learning & Behavior*, 32 (4), 463-476.
- Kelley A.E. & Berridge K.C. (2002). The neuroscience of natural reward: Relevance to addictive drug. *The Journal of Neuroscience*, 22 (9), 3306-3311.
- Kelley A.E. (2004). Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27 (8), 765-776.
- Kelley A.E., Bakshi V.P., Haber S.N., Steingard T.L., Will M.J. & Zhang M. (2002). Opioid modulation of taste hedonics within the ventral striatum. *Physiology & Behavior*, 76 (3), 365-377.
- Kelley A.E., Domesick V.B. & Nauta W.J. (1982). The amygdalostriatal projection in the rat--an anatomical study by anterograde and retrograde tracing methods. *Neuroscience*, 7 (3), 615-630.
- Kelley A.E., Stinus L. & Iversen S.D. (1980). Interactions between D-ala-met-enkephalin, A10 dopaminergic neurones, and spontaneous behaviour in the rat. *Behavioural Brain Research*, 1 (1), 3-24.
- Kenny P.J. (2007). Brain reward systems and compulsive drug use. *TRENDS in Pharmacological Sciences*, 28 (3), 135-141.
- Kent E.W. & Fedinets P. (1976). Effects of GABA blockade on lateral hypothalamic self-stimulation. *Brain Research*, 107 (3), 628-632.
- Kilpatrick M.R., Rooney M.B., Michael D.J. & Wightman R.M. (2000). Extracellular dopamine dynamics in rat caudate-putamen during experimenter-delivered and intracranial self-stimulation. *Neuroscience*, 96, 697-706.

- Kily L.J.M., Cowe Y.C.M., Hussain S., Patel S., McElwaine S., Cotter F.E. & Brennan C.H. (2008). Gene expression changes in a zebrafish model of drug dependency suggest conservation of neuro-adaptation pathways. *The Journal of Experimental Biology*, 211, 1623-1634.
- Kimura A., Imbe H. & Donishi T. (2010). Efferent connections of an auditory area in the caudal insular cortex of the rat: anatomical nodes for cortical streams of auditory processing and cross-modal sensory interactions. *Neuroscience*, 166 (4), 1140-1157.
- Kimura E.H., Oliveira L.B., Colombari D.S., De Luca L.A. Jr., Menani J.V. & Callera J.C. (2008). Sodium intake by hyperosmotic rats treated with a GABA(A) receptor agonist into the lateral parabrachial nucleus. *Brain Research*, 1190, 86-93.
- Kinomura S., Kawashima R., Yamada K., Ono S., Itoh M., Yoshioka S., Yamaguchi T., Matsui H., Miyazawa H., Itoh H., Goto R., Fujiwara T., Satoh K. & Fukuda H. (1994). Functional anatomy of taste perception in the human brain studied with positron emission tomography. *Brain Research*, 659, 263-266.
- Kirkpatrick M.A. & Fowler S.C. (1989). Force-proportional reinforcement: pimozide does not reduce rats' emission of higher forces for sweeter rewards. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 32, 499-504.
- Kiser R.S. & German D.C. (1978a). Opiate effects on aversive midbrain stimulation in rats. *Neuroscience Letters*, 10 (1-2), 197-202.
- Kiser R.S., Lebovitz R.M. & German D.C. (1978b). Anatomic and pharmacologic differences between two types of aversive midbrain stimulation. *Brain Research*, 155 (2), 331-342.
- Knutson B., Bjork J.M., Fong G.W., Hommer D., Mattay V.S. & Weinberger D.R. (2004). Amphetamine modulates human incentive processing. *Neuron*, 43 (2), 261-269.
- Kobashi M. & Bradley R.M. (1998). Effects of GABA on neurons of the gustatory and visceral zones of the parabrachial nucleus in rats. *Brain Research*, 799 (2), 323-328.
- Kobashi M., Ichikawa H., Sugimoto T. & Adachi A. (1993). Response of neurons in the solitary tract nucleus, area postrema and lateral parabrachial nucleus to gastric load of hypertonic saline. *Neuroscience Letters*, 158 (1), 47-50.
- Kobayashi A. & Osaka T. (2003). Involvement of the parabrachial nucleus in thermogenesis induced by environmental cooling in the rat. *European Journal of Physiology*, 446, 760-765.
- Koh M.T. & Bernstein I.L. (2005). Mapping conditioned taste aversion associations using c-fos reveals a dynamic role for insular cortex. *Behavioral Neuroscience*, 119 (2), 388-398.
- Koob G.F. & LeMoal M. (2006). *Neurobiology of Addiction*. San Diego: Academic Press.
- Koob G.F. & Volkow N.D. (2010). Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology*, 35 (1), 217-238.
- Koob G.F. (1992). Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13 (5), 177-184.
- Koob G.F. (2008). A role for brain stress systems in addiction. *Neuron*, 59 (1), 11-34.
- Koob G.F., Markou A., Weiss F. & Schulteis G. (1993). Opponent process and drug dependence: Neurobiological mechanisms. *Seminar in the Neuroscience*, 5, 351-358.

- Kornetsky C. & Esposito R.U. (1981). Reward and detection thresholds for brain stimulation: dissociative effects of cocaine. *Brain Research*, 209 (2), 496-500.
- Kornetsky C. (2004). Brain-stimulation reward, morphine-induced oral stereotypy, and sensitization: implications for abuse. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27, 777-786.
- Krank M.D. (2003). Pavlovian conditioning with ethanol: sign-tracking (autoshaping), conditioned incentive, and ethanol self-administration. *Clinical and Experimental Research*, 27, 1592-1598.
- Kreek M.J. & Koob G.F. (1998). Drug dependence: stress and dysregulation of brain reward pathways. *Drug and Alcohol Dependence*, 51 (1-2), 23-47.
- Krout K.E. & Loewy A.D. (2000). Parabrachial nucleus projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 428 (3), 475-494.
- Kubo T., Hagiwara Y., Sekiya D. & Fukumori R. (1998). Evidence for involvement of the lateral parabrachial nucleus in mediation of cholinergic inputs to neurons in the rostral ventrolateral medulla of the rat. *Brain Research*, 789 (1), 23-31.
- Kucharski L.T., Williams J.E. & Kornetsky C. (1983). The effects of levonandrolol on rewarding brain stimulation thresholds in the rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 19 (1), 149-151.
- Kumar K., Wyant G.M. & Nath R. (1990). Deep brain stimulation for control of intractable pain in humans, present and future: a ten-year follow-up. *Neurosurgery*, 26, 774-781.
- Kuribara H. (1996). Effects of interdose interval on ambulatory sensitization to methamphetamine, cocaine and morphine in mice. *European Journal of Pharmacology*, 316, 1-5.
- Kuzmin A.V., Gerrits M.A.F.M., Van Ree J.M. & Zvartau E.E. (1997). Naloxone inhibits the reinforcing and motivational aspects of cocaine addiction in mice. *Pharmacology Letters*, 60 (18), 257-264.
- Lança A.J. & Van der Kooy D. (1985). A serotonin-containing pathway from the area postrema to the parabrachial nucleus in the rat. *Neuroscience*, 14 (4), 1117-1126.
- Lancellotti D., Bayer B.M., Glowa J.R., Houghtling R.A. & Riley A.L. (2001). Morphine-induced conditioned taste aversions in the LEW/N and F344/N rat strains. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 68, 603-610.
- Land B.B., Bruchas M.R., Lemos J.C., Xu M., Melief E.J. & Chavkin C. (2008). The dysphoric component of stress is encoded by activation of the dynorphin κ -opioid system. *The Journal of Neuroscience*, 28 (2), 407-414.
- Lasiter P.S. & Glanzman D.L. (1985). Cortical substrates of taste aversion learning: involvement of dorsolateral amygdaloid nuclei and temporal neocortex in taste aversion learning. *Behavioral Neuroscience*, 99 (2), 257-276.
- Lasiter P.S. (1985). Thalamocortical relations in taste aversion learning: II. Involvement of the medial ventrobasal thalamic complex in taste aversion learning. *Behavioral Neuroscience*, 99 (3), 477-495.
- Lasiter P.S., Deems D.A. & Glanzman D.L. (1985). Thalamocortical relations in taste aversion learning: I. Involvement of gustatory thalamocortical projections in taste aversion learning. *Behavioral Neuroscience*, 99 (3), 454-476.
- Laviolette S.R. & Van der Kooy D. (2003). Blockade of mesolimbic dopamine transmission dramatically increases sensitivity to the rewarding effects of nicotine in the ventral tegmental area. *Molecular Psychiatry*, 8, 50-59.

- Laviolette S.R., Nader K. & Van der Kooy D. (2002). Motivational state determines the functional role of the mesolimbic dopamine system in the mediation of opiate reward processes. *Behavioral Brain Research*, 129 (1-2), 17-29.
- Layer R.T., Uretsky N.J. & Wallace L.J. (1993). Effects of the AMPA/ kainite receptor antagonist DNQX in the nucleus accumbens on drug-induced conditioned place preference. *Brain Research*, 617, 267-273.
- Lazovic J., Wrzos H.F., Yang Q.X., Collins C.M., Smith M.B., Norgren R., Matyas K. & Ouyang A. (2005). Regional activation in the rat brain during visceral stimulation detected by c-fos expression and fMRI. *Neurogastroenterology and Motility*, 17, 548-556.
- Le Foll B., Francès H., Diaz J., Schwartz J.C. & Sokoloff P. (2002). Role of the dopamine D₃ receptor in reactivity to cocaine-associated cues in mice. *European Journal of Neuroscience*, 15 (12), 2016-2026.
- Le Foll B., Sokoloff P., Stark H. & Goldberg R. (2005). Dopamine D₃ receptor ligands block nicotine-induced conditioned place preferences through a mechanism that does not involve discriminative-stimulus or antidepressant-like effects. *Neuropsychopharmacology*, 30, 720-730.
- Le Magnen J. & Julien N. (1999). The state of research into the mechanisms of appetites for energy. *Appetite*, 33 (1), 2-7.
- Le Magnen J. (1992). *Neurobiology of feeding and nutrition*. Academy Press.
- Lecca D., Cacciapaglia F., Valentini V., Acquas E. & Di Chiara G. (2007a). Differential neurochemical and behavioral adaptation to cocaine after response contingent and noncontingent exposure in the rat. *Psychopharmacology*, 191, 653-667.
- Lecca D., Valentini V., Cacciapaglia F., Acquas E. & Di Chiara G. (2007b). Reciprocal effects of response contingent and noncontingent intravenous heroin on in vivo nucleus accumbens shell versus core dopamine in the rat: a repeated sampling microdialysis study. *Psychopharmacology*, 194, 103-116.
- Lee H.S., Kim M.A., Valentino R.J. & Waterhouse D.B. (2003). Glutamatergic afferent projections to the dorsal raphe nucleus in the rat. *Brain Research*, 963, 57-71.
- Lee Y.S. & Vakoch D.A. (1996). Transfer and retention of implicit and explicit learning. *British Journal of Psychology*, 87, 637-651.
- Len W.B. & Chan J.Y. (1999). Glutamatergic projections to RVLM mediates suppression of reflex bradycardia by parabrachial nucleus. *American Journal of Physiology*, 276, H1482-1492.
- Len W.B. & Chan J.Y. (2001). GABAergic neurotransmission at the nucleus tractus solitarii in the suppression of reflex bradycardia by parabrachial nucleus. *Synapse*, 42, 27-39.
- Leone P. & Di Chiara G. (1987). Blockade of D-1 receptors by SCH 23390 antagonizes morphine- and amphetamine-induced place preference conditioning. *European Journal of Pharmacology*, 135, 251-254.
- Levine A.S. (2006). The animal model in food intake regulation: examples from the opioid literature. *Physiology & Behavior*, 89 (1), 92-96.
- Levine A.S., Grace M., Billington C.J. & Portoghesi P.S. (1990). Nor-binaltorphimine decreases deprivation and opioid-induced feeding. *Brain Research*, 534, 60-64.
- Li B.H., Spector A.C. & Rowland N.E. (1994). Reversal of dexfenfluramine-induced anorexia and c-Fos/c-Jun expression by lesion in the lateral parabrachial nucleus. *Brain Research*, 640 (1-2), 255-267.

- Li S.X., Zou Y., Liu L.J., Wu P. & Lu L. (2009). Aripiprazole blocks reinstatement but not expression of morphine conditioned place preference in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 92 (2), 370-375.
- Liebman J.M. (1989). Introduction. En: Liebman J.M. & Cooper S.J. (1989). *The Neuropharmacological Basis of Reward*. Oxford University Press. Cap. 1. pp 1-13.
- Light A.R., Sedivec M.J., Casale E.J. & Jones S.L. (1993). Physiological and morphological characteristics of spinal neurons projecting to the parabrachial region of the cat. *Somatosensory & Motor Research*, 10 (3), 309-325.
- Lin J.Y., Roman C. & Reilly S. (2009). Taste-potentiated odor aversion learning in rats with lesions of the insular cortex. *Brain Research*, 1297, 135-142.
- Lindvall O., Björklund A. & Divac I. (1978). Organization of catecholamine neurons projecting to the frontal cortex in the rat. *Brain Research*, 142, 1-24.
- Liotti M., Mayberg H.S., Brannan S.K., McGinnis S., Jerabek P. & Fox P.T. (2000). Differential limbic-cortical correlates of sadness and anxiety in healthy subjects: Implications for affective disorders. *Biological Psychiatry*, 48, 30-42.
- Lippa A.S., Antelman S.M., Fisher A.E. & Canfield D.R. (1973). Neurochemical mediation of reward: a significant role for dopamine?. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 1 (1), 23-28.
- Liu C., Showalter J. & Grigson P.S. (2009). Ethanol induced conditioned taste avoidance: reward or aversion?. *Alcoholism, clinical and experimental research*, 33 (3), 522-530.
- Liu J. & Prather P.L. (2001). Chronic exposure to μ -opioid agonist produces constitutive activation of μ -opioid receptors in direct proportion to the efficacy of the agonist used for pretreatment. *Molecular Pharmacology*, 60 (1), 53-62.
- Liu X., Powell D.K., Wang H., Gold B.T., Corbly C.R. & Joseph J.E. (2007). Functional dissociation in frontal and striatal areas for processing of positive and negative reward information. *The Journal of Neuroscience*, 27 (17), 4587-4598.
- Ljungberg T., Apicella P. & Schultz W. (1992). Responses of monkey dopamine neurons during learning of behavioral reactions. *Journal of Neurophysiology*, 67 (1), 145-163.
- Loewy A.D. & Burton H. (1978). Nuclei of the solitary tract: efferent projections to the lower brain stem and spinal cord of the cat. *The Journal of Comparative Neurology*, 181 (2), 421-449.
- Lorden J.F., Callahan M. & Dawson R. Jr. (1980). Depletion of central catecholamines alters amphetamine- and fenfluramine-induced taste aversions in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 94 (1), 99-114.
- Lorens S.A. & Sainati S.M. (1978). Naloxone blocks the excitatory effect of ethanol and chlordiazepoxide on lateral hypothalamic self-stimulation behavior. *Life Sciences*, 23 (13), 1359-1364.
- Lorens S.A. (1976). Comparison of the effects of morphine on hypothalamic and medial frontal cortex self-stimulation in the rat. *Psychopharmacology*, 48 (2), 217-224.
- Louilot A. & Besson C. (2000). Specificity of amygdalostratial interactions in the involvement of mesencephalic dopaminergic neurons in affective perception. *Neuroscience*, 96 (1), 73-82.

- Lü B.C., Li H., Chen T., Huo F.Q., Zhang T. & Li Y.Q. (2009). Endomorphin 1- and endomorphin 2-containing neurons in nucleus tractus solitarii send axons to the parabrachial nuclei in the rat. *Anatomical Record*, 292 (4), 488-497.
- Lundy R.F. Jr. (2008). Gustatory hedonic value: potential function for forebrain control of brainstem taste processing. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32 (8), 1601-1606.
- Lynch M.R. & Carey R.J. (1987). Environmental stimulation promotes recovery from haloperidol-induced extinction of open field behavior in rats. *Psychopharmacology*, 92, 206-209.
- Lynch W.C., Watt J., Krall S. & Paden C.M. (1985). Autoradiographic localization of kappa opiate receptors in CNS taste and feeding areas. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 22 (5), 699-705.
- Lyoo I.K., Pollack M.H., Silveri M.M., Ahn K.H., Diaz C.I., Hwang J., Kim S.J., Yurgelun-Todd D.A., Kaufman M.J. & Renshaw P.F. (2006). Prefrontal and temporal gray matter density decreases in opiate dependence. *Psychopharmacology*, 184 (2), 139-144.
- Ma L., Wang D.D., Zhang T.Y., Yu H., Wang Y., Huang S.H., Lee F.S. & Chen Z.Y. (2011). Region-specific involvement of BDNF secretion and synthesis in conditioned taste aversion memory formation. *The Journal of Neuroscience*, 31 (6), 2079-2090.
- Ma Y.Y., Meng L., Guo C.Y., Han J.S., Lee D.Y. & Cui C.L. (2009). Dose- and time-dependent, context-induced elevation of dopamine and its metabolites in the nucleus accumbens of morphine-induced CPP rats. *Behavioural Brain Research*, 204 (1), 192-199.
- Macedo C.E., Castilho V.M., de Souza e Silva M.A. & Brandão M.L. (2002). Dual 5-HT mechanisms in basolateral and central nuclei of amygdala in the regulation of the defensive behavior induced by electrical stimulation of the inferior colliculus. *Brain Research Bulletin*, 59 (3), 189-195.
- Macedo C.E., Cuadra G., Molina V. & Brandão M-L. (2005a). Aversive stimulation of the inferior colliculus changes dopamine and serotonin extracellular levels in the frontal cortex: modulation by the basolateral nucleus of amygdala. *Synapse*, 55 (1), 58-66.
- Macedo C.E., Martinez R.C., de Souza Silva M.A. & Brandão M.L. (2005b). Increases in extracellular levels of 5-HT and dopamine in the basolateral, but not in the central, nucleus of amygdala induced by aversive stimulation of the inferior colliculus. *European Journal of Neuroscience*, 21 (4), 1131-1138.
- Machado S., Portella C.E., Silva J.G., Velasques B., Bastos V.H., Cunha M., Basile L., Cagy M., Piedade R.A. & Ribeiro P. (2008). Aprendizaje y memoria implícita: mecanismos y neuroplasticidad. *Revista de Neurología*, 46 (9), 543-549.
- Mackey & Van der Kooy (1985). Neuroleptics blocks the positive reinforcing effects of amphetamine but not morphine as measured by place conditioning. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 22, 101-105.
- Mackey W.B., Keller J. & Van der Kooy (1986). Visceral cortex lesions block conditioned taste aversions induced by morphine. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 24, 71-78.
- Madhavan A., Bonci A. & Whistler J.L. (2010). Opioid-Induced GABA potentiation after chronic morphine attenuates the rewarding effects of opioids in the ventral tegmental area. *The Journal of Neuroscience*, 30 (42), 14029-14035.
- Maisonnette S., Villela C., Carotti A.P. & Landeira-Fernandez J. (2000). Microinfusion of nefazodone into the basolateral nucleus of the amygdala enhances defensive behavior induced by NMDA stimulation of the inferior colliculus. *Physiology & Behavior*, 70 (3-4), 243-247.

- Maisonnette S.S., Kawasaki M.C., Coimbra N.C. & Brandão M.L. (1996). Effects of lesions of amygdaloid nuclei and substantia nigra on aversive responses induced by electrical stimulation of the inferior colliculus. *Brain Research Bulletin*, 40 (2), 93-98.
- Maldonado R., Salardi A., Valverde O., Samad T.A., Roques B.P. & Borrelli E. (1997). Absence of opiate rewarding effects in mice lacking dopamine D2 receptors. *Nature*, 388, 586-589.
- Mameli-Engvall M., Evrard A., Pons S., Maskos U., Svensson T.H., Changeux J.P. & Faure P. (2006). Hierarchical control of dopamine neuron-firing patterns by nicotinic receptors. *Neuron*, 50 (6), 911-921.
- Mannelli P., Patkar A.A., Peindl K., Gorelick D.A., Wu L.T. & Gottheil E. (2009a). Very low dose naltrexone addition in opioid detoxification: a randomized, controlled trial. *Addiction Biology*, 14 (2), 204-213.
- Mannelli P., Patkar A.A., Peindl K., Gorelick D.A., Wu L.T. & Gottheil E. (2009b). Early outcomes following low dose naltrexone enhancement of opioid detoxification. *The American Journal of Addictions*, 18 (2), 109-116.
- Manning B.H., Morgan M.J. & Franklin K.B.J. (1994). Morphine analgesia in the formalin test: evidence for forebrain and midbrain sites of action. *Neuroscience*, 63 (1), 289-294.
- Mansour A., Fox C.A., Akil H. & Watson S.J. (1995). Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *TRENDS in Neuroscience*, 18, 22-29.
- Mansour A., Fox C.A., Burke S., Thompson R.C. & Watson S.J. (1994). Mu, delta y kappa opioid receptor mRNA expresión in the rat CNS: an in situ hybridation study. *The Journal of Comparative Neurology*, 350 (3), 412-438.
- Mansour A., Khachaturian H., Lewis M.E., Akil H. & Watson S.J. (1987). Autoradiographic differentiation of mu, delta, and kappa opioid receptors in the rat forebrain and midbrain. *The Journal of Neuroscience*, 7 (9), 2445-2464.
- Manzanedo C. (2001). *Implicación del sistema dopaminérgico en el condicionamiento de preferencia de lugar inducido por la morfina en ratones*. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia, España.
- Mao L., Cho Y.K. & Li C.S. (2008). Modulation of activity of gustatory neurons in the hamster parabrachial nuclei by electrical stimulation of the ventroposteromedial nucleus of the thalamus. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 294 (5), R1461-R1473.
- Marci C.D., Glick D.M., Loh R. & Dougherty D.D.(2007). Autonomic and prefrontal cortex responses to autobiographical recall of emotions. *Cognitive, Affective & Behavioral Neuroscience*, 7 (3), 243-250.
- Margules D.L. (1966). Separation of positive and negative reinforcing systems in the diencephalon of the rat. *The American Journal of Psychology*, 79 (2), 205-216.
- Mark G.P., Hajnal A., Kinney A.E. & Keys A. (1999). Self-administration of cocaine increases the release of acetylcholine to a greater extent than response-independent cocaine in the nucleus accumbens of rats. *Psychopharmacology*, 143, 47-53.
- Mark G.P., Weinberg J.B., Rada P.V. & Hoebel B.G. (1995). Extracellular acetylcholine is increased in the nucleus accumbens following the presentation of an aversively conditioned taste stimulus. *Brain Research*, 688 (1-2), 184-188.
- Markou A., Weiss F., Gold L.H., Caine S.B., Schulteis G. & Koob G.F. (1993). Animal models of drug craving. *Psychopharmacology*, 112 (2-3), 163-182.

- Martin T.J., Kahn W., Cannon D.G. & Smith J.E. (2006). Self-administration of heroin, cocaine and their combination under a discrete trial schedule of reinforcement in rats. *Drug and Alcohol Dependence*, 82, 282-286
- Martin-Iverson M.T., Wilkie D. & Fibiger H.C. (1987). Effects of haloperidol and d-amphetamine on perceived quantity of food and tones. *Psychopharmacology*, 93, 374-381.
- Mason S.T., Beninger R.J., Fibiger H.C. & Phillips A.G. (1980). Pimozide-induced suppression of responding: Evidence against a block of food reward. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 12, 917-923.
- Masterton R.B. (1992). Role of the central auditory system in hearing: the new direction. *Trends in Neurosciences*, 15 (8), 280-285.
- Masukawa Y., Suzuki T. & Misawa M. (1993). Differential modification of the rewarding effects of methamphetamine and cocaine by opioids and antihistamines. *Psychopharmacology*, 111, 139-143.
- Matthes H.W., Maldonado R., Simonin F., Valverde O., Slowe S., Kitchen I., Befort K., Dierich A., LeMeur M., Dollé P., Tzavara E., Hanoune J., Roques B.P. & Kieffer B.L. (1996). Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the μ -opioid-receptor gene. *Nature*, 383, 819-823.
- Mayor L. & Tortosa F. (1997). Perspectivas históricas acerca de la Psicología de la Motivación. *Revista electrónica de motivación y emoción*, 8 (20-21), 1-19.
- McBride W.J., Murphy J.M. & Ikemoto S. (1999). Localization of brain reinforcement mechanisms: intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies. *Behavioural Brain Research*, 101 (2), 129-152.
- McClelland R.C. and Hoebel B.G. 8 (1991). d-Fenfluramine and self-stimulation: Loss of inhibitory effect in underweight rats. *Brain Research Bulletin*, 27 (3-4), 341-345.
- McClelland R.C., Sarfaty T., Hernandez L. & Hoebel B.G. (1989). The appetite suppressant, d-fenfluramine, decreases self-stimulation at a feeding site in the lateral hypothalamus. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 32 (2), 411-414.
- McCullough L.D. & Salamone J.D. (1992). Anxiogenic drug beta-CCE and FG7142 increase extracellular dopamine levels in nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, 109, 379-382.
- McCullough L.D., Cousins M.S. & Salamone J.D. (1993). The role of nucleus accumbens dopamine in responding on a continuous reinforcement operant schedule: a neurochemical and behavioral study. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 46, 581-586.
- McDannald M.A. (2010). Contributions of the amygdala central nucleus and ventrolateral periaqueductal grey to freezing and instrumental suppression in Pavlovian fear conditioning. *Behavioral Brain Research*, 211 (1), 111-117.
- McDonald A. J., Shammah-Lagnado S. J., Shi C. & Davis M. (1999). Cortical Afferents to the Extended Amygdala. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877, 309-338.
- McDonald A.J. & Jackson T.R. (1987). Amygdaloid connections with posterior insular and temporal cortical areas in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 262, 59-77.
- McDonald A.J. (1991). Organization of amygdaloid projections to the prefrontal cortex and associated striatum in the rat. *Neuroscience*, 44 (1), 1-14.
- McDonald A.J. (1998). Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Progress in Neurobiology*, 55, 257-332.

- McFarland K. & Ettenberg A. (1999). Haloperidol does not attenuate conditioned place preferences or locomoto activation produced by food-or heroin-predictive discriminative cues. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 62 (4), 631-641.
- McGaugh J.L. (2004). The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annual Review of Neuroscience*, 27, 1-28.
- McGregor I.A. & Atrens D.M. (1991). Prefrontal cortex self-stimulation and energy balance. *Behavioral Neuroscience*, 105 (6), 870-883.
- McLaughlin J.P., Marton-Popovici M. & Chavkin C. (2003). K opioid receptor antagonism and prodynorphin gene disruption block stress-induced behavioral responses. *The Journal of Neuroscience*, 23 (13), 5674-5683.
- McNaull B., Trang T., Sutak M. & Jhamandas K. (2007). Inhibition of tolerance to spinal morphine antinociception by low doses of opioid receptor antagonists. *European Journal of Pharmacology*, 560, 132-141.
- McSweeney F.K. & Melville C.L. (1993). Behavioral contrast for key pecking as a function of component duration when only one component varies. *Journal of Experimental Analysis of Behavior*, 60 (2), 331-343.
- Mediavilla C., Molina F. & Puerto A. (1999). Inferior olive lesions impair concurrent Taste Aversion Learning in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 72, 13-27.
- Mediavilla C., Molina F. & Puerto A. (2000). The role of the lateral parabrachial nuclei in concurrent and sequential taste aversion learning in rats. *Experimental Brain Research*, 134, 497-505.
- Mediavilla C., Molina F. & Puerto A. (2001). Effects of a flavor-placement reversal test after different modalities of taste aversion learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 76, 209-224.
- Mediavilla C., Molina F. & Puerto A. (2005). Concurrent conditioned taste aversion: A learning mechanism based on rapid neural versus flexible humoral processing of visceral noxious substances. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29 (7), 1107-1118.
- Mehiel R. (1996). The effects of naloxone on flavor-calorie preference learning indicate involvement of opioid reward systems. *The Psychological Record*, 46 (3), 435-450.
- Meier U. & Gressner A.M. (2004). Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clinical Chemistry*, 50 (9), 1511-1525.
- Melo L.L. & Brandão M.L. (1995). Role of 5-HT1A and 5-HT2 receptors in the aversion induced by electrical stimulation of inferior colliculus. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 51 (2-3), 317-321.
- Melo L.L., Cardoso S.H. & Brandão M.L. (1992). Antiaversive action of benzodiazepines on escape behavior induced by electrical stimulation of the inferior colliculus. *Physiology & Behavior*, 51 (3), 557-562.
- Menani J.V. & Johnson A.K. (1998). Cholecystokinin actions in the parabrachial nucleus: effects on thirst and salt appetite. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 275, 1431-1437.
- Menani J.V., Barbosa S.P., Antonio De Luca L., Frattucci de Gobbi J.I. & Jonson A.K. (2002). Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus and cholinergic-induced sodium appetite. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 282, 837-841.

- Meng Z., Liu C., Hu X. & Ma Y. (2010). Irregular morphine administration affects the retention but not acquisition of conditioned place preference in rats. *Brain Research*, 1311, 86-92.
- Mesulam M.M. & Mufson E.J. (1982). Insula of the old world monkey. I. Architectonics in the insulo-orbito-temporal component of the paralimbic brain. *The Journal of Comparative Neurology*, 212 (1), 1-22.
- Milekic M.H., Brown S.D., Castellini C. & Alberini C.M. (2006). Persistent disruption of an established morphine conditioned place preference. *The Journal of Neuroscience*, 26 (11), 3010-3020.
- Miliaressis E. (1977). Serotonergic basis of reward in median raphé of the rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 7 (2), 177-180.
- Miller N.E. (1957). Experiments on motivation. Studies combining psychological, physiological, and pharmacological techniques. *Science*, 126 (3286), 1271-1278.
- Miller R.L. & Baum M.J. (1987). Naloxone inhibits mating and conditioned place preference for an estrous female in male rats soon after castration. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 26, 781-789.
- Milman A., Weizman R., Rigai T., Rice K.C. & Pick C.G. (2006). Behavioral effects of opioid subtypes compared with benzodiazepines in the staircase paradigm. *Behavioural Brain Research*, 170 (1), 141-147.
- Miranda M.I., Ferreira G., Ramírez-Lugo L. & Bermúdez-Rattoni F. (2003). Role of cholinergic system on the construction of memories: Taste memory encoding. *Neurobiology of Learning and Memory*, 80, 211-222.
- Miranda M.I., Ramírez-Lugo L. & Bermúdez-Rattoni F. (2000). Cortical cholinergic activity is related to the novelty of the stimulus. *Brain Research*, 882, 230-235.
- Mirenowicz J. & Schultz W. (1994). Importance of unpredictability for reward responses in primate dopamine neurons. *Journal of Neurophysiology*, 72 (2), 1024-1027.
- Mirenowicz J. & Schultz W. (1996). Preferential activation of midbrain dopamine neurons by appetitive rather aversive stimuli. *Nature*, 379, 449-451.
- Mitchell J.L., Sirverman M.B. & Aicher S.A. (2004). Rat trigeminal lamina I neurons that project to thalamic or parabrachial nuclei contain the μ -opioid receptor. *Neuroscience*, 128, 571-582.
- Moga M.M., Herbert H., Hurley K.M., Yasui Y., Gray T.S. & Saper C.B. (1990). Organization of cortical, basal forebrain, and hypothalamic afferents to the parabrachial nucleus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 295 (4), 624-661.
- Mogenson G.J. (1969). Water deprivation and excessive water intake during self-stimulation. *Physiology & Behavior*, 4, 393-396
- Molina F. & Puerto A. (1990). Bases biológicas de la Motivación y la Emoción. En: Mayor J. & Pinillos J.L. *Tratado de Psicología General*. Alhambra Universidad. pp. 263-280.
- Monroe S. & Di Lorenzo P.M. (1995). Taste responses in neurons in the nucleus of the solitary tract that do and do not project to the parabrachial pons. *Journal of Neurophysiology*, 74 (1), 249-257.
- Moolten M. & Kornetsky c. (1990). Oral self-administration of ethanol and not experimenter-administered ethanol facilitates rewarding electrical brain stimulation. *Alcohol*, 7, 221-225.
- Morgado I. (2005). Psicobiología del aprendizaje y la memoria: fundamentos y avances recientes. *Revista de neurología*, 40 (5), 289-297.

- Morgan M.J. & Franklin K.B.J. (1991). Dopamine receptor subtypes and formalin test analgesia. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 40, 317-322.
- Morgane P.J. & Mokler D.J. (2006). The limbic brain: Continuing resolution. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 30 (2), 119-125.
- Morley J.E. & Levine A.S. (1983). The central control of appetite. *LANCET*, 1 (8321), 398-401.
- Morón I., Gómez M.A., Escarabajal M.A., de la Torre L., Cándido A., Maldonado A., Tobeña A., Fernández-Teruel A. & Torres C. (2010). One-way avoidance learning in female inbred Roman high- and low-avoidance rats: effects of bilateral electrolytic central amygdala lesions. *Neuroscience Letters*, 474 (1), 32-36.
- Motta V. & Brandão M.L. (1993). Aversive and antiaversive effects of morphine in the dorsal periaqueductal gray of rats submitted to the elevated plus-maze test. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 44 (1), 119-125.
- Motta V., Penha K. & Brandão M.L. (1995). Effects of microinjections of mu and kappa receptor agonists into the dorsal periaqueductal gray of rats submitted to the plus maze test. *Psychopharmacology*, 120 (4), 470-474.
- Moufid-Bellancourt S., Razafimanalina R. & Velly L. (1996). Interaction between mu and kappa receptors located in the parabrachial area in the opioid control of preference threshold for saccharin: modulatory role of lateral hypothalamic neurones. *Behavioural Pharmacology*, 7 (8), 798-809.
- Mucha F.R., Millan M.J. & Herz A. (1985). Aversive properties of naloxone in non-dependent (naive) rats may involve blockade of central β -endorphin. *Psychopharmacology*, 86, 281-285.
- Mucha R.F., Van der Kooy D., O'Shaughnessy M. & Buceniks P. (1982). Drug reinforcement studied by the use of place conditioning in rat. *Brain Research*, 243 (1), 91-105.
- Mumford G.K., Neill D.B. & Holtzman S.G. (1988). Caffeine elevates reinforcement threshold for electrical brain stimulation: tolerance and withdrawal changes. *Brain Research*, 459, 163-167.
- Mungarndee S.S., Lundy R.F. Jr. & Norgren R. (2008). Expression of Fos during sham sucrose intake in rats with central gustatory lesions. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 295 (3), R751-R763.
- Murphy F.C., Nimmo-Smith I. & Lawrence A.D. (2003). Functional neuroanatomy of emotions: a meta-analysis. *Cognitive, Affective & Behavioral Neuroscience*, 3 (3), 207-233.
- Nader K. & Van der Kooy D. (1997). Deprivation state switches the neurobiological substrates mediating opiate reward in the ventral tegmental area. *The Journal of Neuroscience*, 17 (1), 383-390.
- Nader K., Bechara A. & Van der Kooy D. (1996a). Lesions of the lateral parabrachial nucleus block the aversive motivational effects of both morphine and morphine withdrawal but spare morphine's discriminative properties. *Behavioral Neuroscience*, 110 (6), 1496-1502.
- Nader K., Bechara A., Roberts D.C. & Van der Kooy D. (1994). Neuroleptics block high- but not low-dose heroin place preferences: further evidence for a two-system model of motivation. *Behavioral Neuroscience*, 108 (6), 1128-1138.
- Nader K., Bechara A., Roberts D.C. & Van der Kooy D. (1996b). Neuroleptics block high-but not low-dose heroin place preferences: Further evidence for a two-system model of motivation. *Behavioral Neuroscience*, 108 (6), 1128-1138.

- Nakahara D., Ishida Y., Nakamura M., Furuno N. & Nishimori T. (2001). Intracranial self-stimulation induces Fos expression in GABAergic neurons in the rat mesopontine tegmentum. *Neuroscience*, 106 (3), 633-641.
- Nakajima S. & McKenzie G.M. (1986). Reduction of the rewarding effect of brain stimulation by a blockade of dopamine D1 receptor with SCH 23390. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 24 (4), 919-923.
- Nakamura K., Kaneko T., Yamashita Y., Hasegawa H., Katoh H. & Negishi M.(2000). Immunohistochemical localization of prostaglandin EP3 receptor in the rat nervous system. *The Journal of Comparative Neurology*, 421 (4), 543-569
- Nakashima M., Uemura M., Yasui K., Ozaki H.S., Tabata S. & Taen A. (2000). An anterograde and retrograde tract-tracing study on the projections from the thalamic gustatory area in the rat: distribution of neurons projecting to the insular cortex and amygdaloid complex. *Neuroscience Research*, 36, 297-309.
- Naor C. & Dudai Y. (1996). Transient impairment of cholinergic function in the rat insular cortex disrupts the encoding of taste in conditioned taste aversion. *Behavioral Brain Research*, 77 (1-2), 61-67.
- Naqvi N.H. & Bechara A. (2009). The hidden island of addiction: the insula. *Trends in Neurosciences*, 32 (1), 56-67.
- Naqvi N.H., Rudrauf D., Damasio H. y Bechara A. (2007). Damage to the insula disrupts addiction to cigarette smoking. *Science*, 315, 531-534.
- Neal C.R. Jr., Mansour A., Reinscheid R., Nothacker H.P., Civelli O. & Watson S.J. Jr. (1999). Localization of orphanin FQ (nociceptin) peptide and messenger RNA in the central nervous system of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 406 (4), 503-547.
- Neal C.R. Jr., Owens C.E., Taylor L.P., Hoversten M.T., Akil H. & Watson S.J. Jr. (2003). Binding and GTPgammaS autoradiographic analysis of preproorphanin precursor peptide products at the ORL1 and opioid receptors. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 25 (4), 233-247.
- Négyessy L., Hámori J. & Bentivoglio M. (1998). Contralateral cortical projection to the mediodorsal thalamic nucleus: origin and synaptic organization in the rat. *Neuroscience*, 84 (3), 741-753.
- Neill D.B., Boggan W.O. & Grossman S.P. (1974). Impairment of avoidance performance by intrastriatal administration of 6-hydroxydopamine. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 2, 97-103.
- Nencini P. & Steward J. (1990). Chronic systemic administration of amphetamine increases food intake to morphine, but not to U50,488H, microinjected into the ventral tegmental area in rats. *Brain Research*, 527, 254-258.
- Nestler E.J., Hyman S.E. & Malenka R.C. (2009). *Molecular Neuropharmacology: A Foundation for Clinical Neuroscience*. Segunda Edición. Mc Graw Hill.
- Neubert J.K., Rossi H.L., Pogar J., Jenkins A.C. & Caudle R.M. (2007). Effects of mu- and kappa-2 opioid receptor agonists on pain and rearing behavior. *Behavioral and brain functions*, 3, 49-59.
- Newman L.M. (1972). Effects of cholinergic agonists and antagonists on self-stimulation behavior in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 79 (3), 394-413.
- Nieto M.M., Wilson J., Cupo A., Roques B.P. & Noble F. (2002). Chronic morphine treatment modulates the extracellular levels of endogenous enkephalins in rat brain structures involved in opiate dependence: a microdialysis study. *The Journal of Neuroscience*, 22 (3), 1034-1041.

- Nishijo H. & Norgren R. (1997). Parabrachial neural coding of taste stimuli in awake rats. *Journal of Neurophysiology*, 78 (5), 2254-2268.
- Niu J.G., Yokota S., Tsumori T., Qin Y. & Yasui Y. (2010). Glutamatergic lateral parabrachial neurons innervate orexin-containing hypothalamic neurons in the rat. *Brain Research*, 1358, 110-122.
- Nowakowska E., Kus K., Czubak A., Glowacka D. & Matschay A. (2007). Some behavioural effects of carbamazepine - comparison with haloperidol. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 58 (2), 253-64.
- O'Doherty J.O., Kringelbach M.L., Rolls E.T., Hornak J., Andrews C. (2001). Abstract reward and punishment representations in the human orbitofrontal cortex. *Nature Neuroscience*, 4 (1), 95-102.
- Ogawa H. & Wang X.D. (2002). Neurons in the cortical taste area receive nociceptive inputs from the whole body as well as the oral cavity in the rat. *Neuroscience Letters*, 322, 87-90.
- Ogawa H., Hasegawa K., Otawa S. & Ikeda I. (1998). GABAergic inhibition and modifications of taste responses in the cortical taste area in rats. *Neuroscience Research*, 32, 85-95.
- Olds J. & Fobes J.J. (1981). The central basis of motivation: Intracranial self-stimulation studies. *Annual Reviews of Psychology*, 32, 523-574.
- Olds J. (1958). Satiation effects in self-stimulation of the brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 51 (6), 675-678.
- Olds J., & Milner P. (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 47, 419-27.
- Oliveira L.B., Callera J.C., De Luca L.A. Jr., Colombari D.S. & Menani J.V. (2007). GABAergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on sodium appetite. *Brain Research Bulletin*, 73 (4-6), 238-247.
- Olmstead M.C. & Burns L.H. (2005). Ultra-low-dose naltrexone suppresses rewarding effects of opiates and aversive effects of opiate withdrawal in rats. *Psychopharmacology*, 181, 576-581.
- Olmstead M.C. & Franklin K.B. (1993). Effects of pedunculo-pontine tegmental nucleus lesions on morphine-induced conditioned place preference and analgesia in the formalin test. *Neuroscience*, 57 (2), 411-418.
- Olmstead M.C. & Franklin K.B.J. (1996). Differential effects of ventral striatal lesions on the conditioned place preference induced by morphine or amphetamine. *Neuroscience*, 71 (3), 701-708.
- Olmstead M.C. & Franklin K.B.J. (1997). The development of a conditioned place preference to morphine: Effect of lesions of various CNS sites. *Behavioral Neuroscience*, 111 (6), 1313-1323.
- Öngür D. & Price J.L. (1998). Prefrontal cortical projections to the hypothalamus in macaque monkeys. *The Journal of Comparative Neurology*, 401, 480-505.
- Osaki M.Y., Castellan-Baldan L., Calvo F., Carvalho A.D., Felippotti T.T., de Oliveira R., Ubiali W.A., Paschoalin-Maurin T., Elias-Filho D.H., Motta V., da Silva L.A. & Coimbra N.C. (2003). Neuroanatomical and neuropharmacological study of opioid pathways in the mesencephalic tectum: effect of mu(1)- and kappa-opioid receptor blockade on escape behavior induced by electrical stimulation of the inferior colliculus. *Brain Research*, 992 (2), 179-192.
- Oshiro Y., Fujita N., Tanaka H., Hirabuki N., Nakamura H. & Yoshiya I. (1998). Functional mapping of pain-related activations with echo-planar MRI: Significance of the SII-insular region. *NeuroReport*, 9, 2285-2289.

- Ostlund S.B. & Balleine B.W. (2007). Orbitofrontal cortex mediates outcome encoding in pavlovian but not instrumental conditioning. *The Journal of Neuroscience*, 27 (18), 4819-4825.
- Otake K. & Nakamura Y. (2003). Forebrain neurons with collateral projections to both the interstitial nucleus of the posterior limb of the anterior commissure and the nucleus of the solitary tract in the rat. *Neuroscience*, 119 (3), 623-628.
- Owesson-White C.A., Cheer J.F., Beyene M., Carelli R.M. & Wightman R.M. (2008). Dynamic changes in accumbens dopamine correlate with learning during intracranial self-stimulation. *PNAS*, 105 (33), 11957-11962
- Paes A.M., Carniatio S.R., Francisco F.A., Brito N.A. & Mathias P.C. (2006). Acetylcholinesterase activity changes on visceral organs of VMH lesion-induced obese rats. *The International Journal of Neuroscience*, 116 (11), 1295-1302.
- Palchoudhuri M. & Flügge G. (2005). 5-HT1A receptor expression in pyramidal neurons of cortical and limbic brain regions. *Cell and Tissue Research*, 321, 159-172.
- Pandossio J.E. & Brandão M.L. (1999). Defensive reactions are counteracted by midazolam and muscimol and elicited by activation of glutamate receptors in the inferior colliculus of rats. *Psychopharmacology*, 142 (4), 360-368.
- Panguluri S., Saggi S. & Lundy R. (2009). Comparison of somatostatin and corticotrophin-releasing hormone immunoreactivity in forebrain neurons projecting to taste-responsive and non-responsive regions of the parabrachial nucleus in rat. *Brain Research*, 1298, 57-69.
- Panksepp J. & Trowill J. A. (1967). Intra-oral self-injection: The simulation of self-stimulation phenomena with conventional reward. *Psychonomic Science*, 9, 405-408.
- Panksepp J., Gandelman R. & Trowill J. (1970). Modulation of hypothalamic self-stimulation and escape behavior by chlordiazepoxide. *Physiology & Behavior*, 5 (9), 965-969.
- Paolone G., Burdino R., Badiani A. (2003). Dissociation in the modulatory effects of environmental novelty on the locomotor, analgesic, and eating response to acute and repeated morphine in the rat. *Psychopharmacology*, 166, 146-155.
- Papadouka V. & Carr K.D. (1994). The role of multiple opioid receptors in the maintenance of stimulation-induced feeding. *Brain Research*, 639 (1), 42-48.
- Papas S. & Ferguson A.V. (1990). Electrophysiological characterization of reciprocal connections between the parabrachial nucleus and the area postrema in the rat. *Brain Research Bulletin*, 24 (4), 577-582.
- Papp M., Gruca P. & Willner P. (2002). Selective blockade of drug-induced place preference conditioning by ACPC, a functional NDMA-receptor antagonist. *Neuropsychopharmacology*, 27 (5), 727-743.
- Parada M.A., Puig de Parada M. & Hoebel B.G. (1995). Rats self-inject a dopamine antagonist in the lateral hypothalamus where it acts to increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 52 (1), 179-187.
- Paredes R.G. & Agmo A. (2004). Has dopamine a physiological role in the control of sexual behavior? A critical review of the evidence. *Progress in Neurobiology*, 73, 179-226.
- Parker L.A., Cyr J.A., Santi A.N. & Burton P.D. (2002). The aversive properties of acute morphine dependence persist 48 h after a single exposure to morphine. Evaluation by taste and place conditioning. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 72, 87-92.

- Paues J., Mackerlova L. & Blomqvist A. (2006). Expression of melanocortin-4 receptor by rat parabrachial neurons responsive to immune and aversive stimuli. *Neuroscience*, 141 (1), 287-297.
- Paxinos G. & Watson C. (1990). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, San Diego, CA. Academy Press.
- Paxinos G. & Watson C. (2005). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, San Diego, Elsevier.
- Peciña S. & Berridge K.C. (2005). Hedonic hot spot in nucleus accumbens shell: Where do μ -opioids cause increased hedonic impact of sweetness?. *The Journal of Neuroscience*, 25 (50), 11777-11786.
- Peciña S., Berridge K.C. & Parker L.A. (1997). Pimozide does not shift palatability: Separation of anhedonia from sensorimotor suppression by taste reactivity. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 58 (3), 801-811.
- Perkins K.A., Lerman C., Grottenhaler A., Ciccocioppo M.M., Milanak M., Conklin C.A., Bergen A.W. & Benowitz N.L. (2008). Dopamine and opioid gene variants are associated with increased smoking reward and reinforcement owing to negative mood. *Behavioral Pharmacology*, 19 (5-6), 641-649.
- Petroianu G.A., Hasan M.Y., Arafat K., Nurulain S.M. & Schmitt A. (2005). Weak inhibitors protect cholinesterases from strong inhibitors (paraoxon): in vitro effect of tiapride. *Journal of Applied Toxicology*, 25 (6), 562-567.
- Petroianu G.A., Hasan M.Y., Nurulain S.M., Arafat K., Sheen R. & Nagelkerke N. (2007). Comparison of two pre-exposure treatment regimens in acute organophosphate (paraoxon) poisoning in rats: tiapride vs. pyridostigmine. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 219 (2-3), 235-240.
- Petrov T., Jhamandas J.H. & Krukoff T.L. (1992). Characterization of peptidergic efferents from the lateral parabrachial nucleus to identified neurons in the rat dorsal raphe nucleus. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 5 (5), 367-373.
- Petrovich G.D. & Swanson L.W. (1997). Projections from the lateral part of the central amygdalar nucleus to the postulated fear conditioning circuit. *Brain Research*, 763 (2), 247-254.
- Peyron R., Laurent B. & García-Larrea L. (2000). Functional imaging of brain responses to pain. A review and meta-analysis (2000). *Neurophysiologie Clinique*, 30, 263-288.
- Phan K.L., Wager T., Taylor S.F. & Liberzon I. (2002). Functional neuroanatomy of emotion: a meta-analysis of emotion activation studies in PET and fMRI. *NeuroImage*, 16 (2), 331-348.
- Phillips A.G. & Fibiger H.C. (1989). Neuroanatomical bases of intracranial self-stimulation: untangling the Gordian knot. En: Liebman J.M. & Cooper S.J. *The Neuropharmacological Basis of Reward*. Oxford University Press. Cap. 3. pp. 66-105.
- Phillips A.G. & LePiane F.G. (1980). Reinforcing effects of morphine microinjection into the ventral tegmental area. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 12 (6), 965-968.
- Phillips A.G. & Mogenson G.J. (1968). Effects of taste on self-stimulation and induced drinking. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 66 (3), 654-660.
- Phillips A.G. (1984). Brain Reward Circuitry: a case for separate systems. *Brain Research Bulletin*, 12, 195-201.
- Phillips A.G. (2003). Mesocorticolimbic dopamine: a neurochemical link between motivation and memory. *International Congress Series*, 1250, 509-526.

- Phillips A.G., Ahn S. & Howland J.G. (2003). Amygdalar control of the mesocorticolimbic dopamine system: parallel pathways to motivated behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27, 543-554.
- Phillips A.G., Brooke S.M. & Fibiger H.C. (1975). Effects of amphetamine isomers and neuroleptics on self-stimulation from the nucleus accumbens and dorsal noradrenergic bundle. *Brain Research*, 85 (1), 13-22.
- Phillips A.G., Carter D.A. & Fibiger H.C. (1976). Dopaminergic substrates of intracranial self-stimulation in the caudate-putamen. *Brain Research*, 104 (2), 221-232.
- Phillips M.L., Young A.W., Senior C., Brammer M., Andrew C., Calder A.J., Bullmore E.T., Perrett D.I., Rowland D., Williams S.C., Gray J.A. & David A.S. (1997). A specific neural substrate for perceiving facial expressions of disgust. *Nature*, 389 (6650), 495-498.
- Phillips P.E., Stuber G.D., Helen M.L.A.V., Wightman R.M. & Carelli R.M. (2003). Subsecond dopamine release promotes cocaine seeking. *Nature*, 422, 614-618.
- Pickens R. & Harris W.C. (1968). Self-Administration of d-amphetamine by rats. *Psychopharmacologia*, 12, 158-163.
- Piepponen T.P., Kivastik T., Katajamäki J., Zharkovsky A. & Ahtee L. (1997). Involvement of opioid mu 1 receptors in morphine-induced conditioned place preference in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 58 (1), 275-279.
- Pierce R.C. & Kumaresan V. (2006). The mesolimbic dopamine system: The final common pathway for the reinforcing effect of drug of abuse?. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 30, 215-238.
- Pilla M., Perachon S., Sautel F., Garrido F., Mann A., Wermuth C.G., Schwartz J.C., Everitt B.J. & Sokoloff P. (1999). Selective inhibition of cocaine-seeking behaviour by a partial dopamine D3 receptor agonist. *Nature*, 400 (6742), 371-375.
- Poon C.S. (2009). Optimal interaction of respiratory and thermal regulation at rest and during exercise: role of a serotonin-gated spinoparabrachial thermoafferent pathway. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 169 (3), 234-242.
- Porubská K., Veit R., Preissl H., Fritsche A. & Birbaumer N. (2006). Subjective feeling of appetite modulates brain activity: an fMRI study. *NeuroImage*, 32 (3), 1273-1280.
- Poschel B.P., Ninteman F.W., McLean J.R. & Potoczak D. (1974). Intracranial reward after 5,6-dihydroxytryptamine: further evidence for serotonin's inhibitory role. *Life Science*, 15 (8), 1515-1522.
- Pothos E., Rada P., Mark G.P. & Hoebel B.G. (1991). Dopamine microdialysis in the nucleus accumbens during acute and chronic morphine, naloxone-precipitated withdrawal and clonidine treatment. *Brain Research*, 566, 348-350.
- Poulos C.X. & Cappell H. (1991). Homeostatic theory of drug tolerance: A general model of physiological adaptation. *Psychological Reviews*, 98 (3), 390-408.
- Poulos, C.X., Wilkinson, D.A., y Cappell. H. (1981). Homeostatic regulation and pavlovian conditioning in tolerance to amphetamine-induced anorexia. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 95, 735-746.
- Powell K.J., Abul-Husn N.S., Jhamandas A., Olmstead M.C., Beninger R.J. & Jhamandas K. (2002). Paradoxical effects of the opioid antagonist naltrexona on morphine analgesia, tolerance, and reward in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 300 (2), 588-596.

- Prado W.A. & Roberts M.H. (1985). An assessment of the antinociceptive and aversive effects of stimulating identified sites in the rat brain. *Brain Research*, 340 (2), 219-228.
- Pritchard T.C., Hamilton R.B., Morse J.R. & Norgren R. (1986). Projections of thalamic gustatory and lingual areas in the monkey, *Macaca fascicularis*. *The Journal of Comparative Neurology*, 244 (2), 213-228.
- Pritchard T.C., Macaluso D.A. & Eslinger P.J. (1999). Taste perception in patients with insular cortex lesions. *Behavioral Neuroscience*, 113 (4), 663-671.
- Purón-Sierra L., Sabath E., Nuñez-Jaramillo L. & Miranda M.I. (2010). Blockade of nucleus basalis magnocellularis or activation of insular cortex histamine receptors disrupts formation but not retrieval of aversive taste memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 93 (2), 216-220.
- Quirion R., Zajac J.M., Morgat J.L. & Roques B.P. (1983). Autoradiographic distribution of mu and delta opiate receptors in rat brain using highly selective ligands. *Life Science*, 33 (Supl. 1), 227-230.
- Rabinowitz J., Cohen H. & Atias S. (2002). Outcomes of naltrexone maintenance following ultra rapid opiate detoxification versus intensive inpatient detoxification. *The American Journal of Addictions*, 11 (1), 52-56.
- Rada P.V. & Hoebel B.G. (2001). Aversive hypothalamic stimulation releases acetylcholine in the nucleus accumbens, and stimulation-escape decreases it. *Brain Research*, 888 (1), 60-65.
- Rada P.V., Mark G.P. & Hoebel B.G. (1998). Dopamine release in the nucleus accumbens by hypothalamic stimulation-escape behavior. *Brain Research*, 782 (1-2), 228-234.
- Ramabadran K. (1983). Naloxone-precipitated abstinence in mice, rats and gerbils acutely dependent on morphine. *Life Science*, 33 (Supl. 1), 385-388.
- Ratray M., Savery D., Wotherspoon G., Priestley J.V. & Smith G.S. (1992). Two populations of cells that express preprocholecystokinin mRNA in ventral periaqueductal grey. *Neuroscience Letters*, 143 (1-2), 55-59.
- Reid L.D., Hubbell C.L., Glaccum M.B., Bilsky E.J., Portoghesi P.S. & Porreca F. (1993). Naltrindole, an opioid delta receptor antagonist, blocks cocaine-induced facilitation of responding for rewarding brain stimulation. *Life Sciences*, 52 (9), 67-71.
- Reid L.D., Hubbell C.L., Tsai J., Fishkin M.D. & Amendola C.A. (1996). Naltrindole, a δ -opioid antagonist, blocks MDMA's ability to enhance pressing for rewarding brain stimulation. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 53 (2), 477-480.
- Reilly S. & Trifunovic R. (2000a). Lateral parabrachial nucleus lesions in the rat: Long- and short-duration gustatory preference test. *Brain Research Bulletin*, 51 (2), 177-186.
- Reilly S. & Trifunovic R. (2000b). Lateral parabrachial nucleus lesions in the rat: Aversive and appetitive gustatory conditioning. *Brain Research Bulletin*, 52 (4), 269-278.
- Rescorla R.A. & Wagner A.R. (1972). A theory of Pavlovian conditioning: Variations in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement. En: Black A.H. & Prokasy W.F. (Eds.). *Classical conditioning II*. New York: Appleton-Century-Crofts. pp. 64-99.
- Reynolds S.M. & Berridge K.C. (2002). Positive and negative motivation in nucleus accumbens shell: Bivalent rostrocaudal gradients for GABA-elicited eating, taste "liking"/"disliking" reactions, place preference/avoidance, and fear. *The Journal of Neuroscience*, 22 (16), 7308-7320.

- Reynolds S.M. & Zahm D.S. (2005). Specificity in the projections of prefrontal and insular cortex to ventral striatopallidum and the extended amygdala. *The Journal of Neuroscience*, 25 (50), 11757-11767.
- Rezayof A., Zarrindast M., Sahraei H. & Haeri-Rohani A. (2002). Involvement of dopamine D2 receptors of the central amygdala on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 74, 187-197.
- Rezayof A., Zarrindast M., Sahraei H. & Haeri-Rohani A. (2003). Involvement of dopamine receptors of the dorsal hippocampus on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rats. *Journal of Psychopharmacology*, 17 (4), 415-423.
- Richard S., Engblom D., Paues J., Mackerlova L. & Blomqvist A. (2005). Activation of the parabrachio-amygdaloid pathway by immune challenge or spinal nociceptive input: a quantitative study in the rat using Fos immunohistochemistry and retrograde tract tracing. *Journal of Comparative Neurology*. 481 (2), 210-219.
- Rinaman L. & Schwartz G. (2004). Anterograde transneuronal viral tracing of central viscerosensory pathways in rats. *The Journal of Neuroscience*, 24 (11), 2782-2786.
- Ritchie B.F. (1947). Studies in spatial learning: III. Two paths to the same location and two paths to two different locations. *Journal of Experimental Psychology*, 37 (1), 25-38.
- Ritter S. (1994). Multiple metabolic controls of feeding. *Appetite*, 23 (2), 199.
- Ritter S., Dinh T.T. & Friedman M.I. (1994). Induction of Fos-like immunoreactivity (Fos-li) and stimulation of feeding by 2,5-anhydro-D-mannitol (2,5-AM) require the vagus nerve. *Brain Research*, 646, 53-64.
- Ritter S., McGlone J.J. & Kelley K.W. (1980). Absence of lithium-induced taste aversion after area postrema lesion. *Brain Research*, 201 (2), 501-506.
- Ritz M.C., Lamb R.J., Golberg S.R. & Kuhar M.J. (1987). Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. *Science*, 237 (4819), 1219-1223
- Rivera M. & Gintzler A.R. (1998). Differential effect of chronic morphine on mRNA encoding adenylyl cyclase isoform: relevance to physiological sequel of tolerance/dependence. *Molecular Brain Research*, 54, 165-169.
- Robbins T.W. & Everitt B.J. (1996). Neurobehavioral mechanism of reward and motivation. *Current Opinion in Neurobiology*, 6, 228-236.
- Robbins T.W. & Everitt B.J. (1999). Motivation and Reward. En: Zigmond M.J., Bloom F.E., Landis S.C., Roberts J.L. & Squire L.R. (Eds.). *Fundamental Neuroscience*. Academic Press.
- Robbins T.W. & Koob G.F. (1980). Selective disruption of displacement behavior by lesions of mesolimbic dopamine system. *Nature*, 285, 409-412.
- Robertson R.T. (1979). Patterns of habituation to electrical stimulation of cerebral cortex in the awake cat. *Brain Research*, 173, 557-561.
- Robertson R.T. (1981). Patterns of habituation to electrical stimulation of reticular and auditory pathways. *Brain Research Bulletin*, 6, 365-370.
- Robinson S., Sandstrom S.M., Denenberg V.H. & Palmiter R.D. (2005). Distinguishing whether dopamine regulates liking, wanting and/or learning about reward. *Behavioral Neuroscience*, 119 (1), 5-15.
- Robinson T.E. & Berridge K.C. (2003) Addiction. *Annual Review of Psychology*, 54, 25-53.

- Robinson T.E. & Kolb B. (1997). Persistent structural modifications in nucleus accumbens and prefrontal cortex neurons produced by previous experience with amphetamine. *The Journal of Neuroscience*, 17 (21), 8491-8497.
- Robinson T.E. & Kolb B. (2004). Structural plasticity associated with exposure to drugs of abuse. *Neuropharmacology*, 47 (Supl. 1), 33-46.
- Rodríguez G. & Pellicer F. (2010). Electrical stimulation of dorsal and ventral striatum differentially alters the copulatory behavior of male rats. *Behavioral Neuroscience*, 124 (5), 686-694.
- Rodríguez G. & Alonso G. (2002). Latent inhibition as a function of CS intensity in taste aversion learning. *Behavioral Processes*, 60 (1), 61-67.
- Roitman M.F., Na E., Anderson G., Jones T.A. & Bernstein I.L. (2002). Induction of a salt appetite alters dendritic morphology in nucleus accumbens and sensitizes rats to amphetamine. *The Journal of Neuroscience*, 22 (11), RC225: 1-5.
- Roitman M.F., Stuber G.D., Phillips P.E., Wightman P.M. & Carelli R.M. (2004a). Dopamine operates as a subsecond modulator of food seeking. *The Journal of Neuroscience*, 24 (6), 1265-1271.
- Roitman M.F., Wheeler R.A. & Carelli R.M. (2004b). Nucleus accumbens neurons are innately tuned for rewarding and aversive taste stimuli, encode their predictors, and are linked to motor output. *Neuron*, 45, 587-597.
- Rolls E.T. (1982). Feeding and Reward. En: Hoebel B.G. & Novin D. (Eds.). *The Neural Basis of Feeding and Reward*. Haer Institute for Electrophysiological Research. pp. 323-238.
- Rolls E.T. (1994). Neural processing related to feeding in primates. En: Legg C.R. & Booth D.A. (Eds.). *Appetite*, OUP, pp. 11-53.
- Rolls E.T. (1997). Taste and olfactory processing in the brain and its relation to the control of eating. *Critical Reviews in Neurobiology*, 11 (4), 263-287.
- Rolls E.T. (2000). Memory Systems in the Brain. *Annual Review of Psychology*, 51, 599-630.
- Rooszendaal B., Barsegyan A. & Lee S. (2008). Adrenal stress hormones, amygdala activation, and memory for emotionally arousing experiences. *Progress in Brain Research*, 167, 79-97.
- Roper S.N., Lévesque M.F., Sutherland W.W. & Engel J. Jr. (1993). Surgical treatment of partial epilepsy arising from the insular cortex. Report of two cases. *Journal of Neurosurgery*, 79 (2), 266-269.
- Ross J.T., Corrigan W.A., Heidbreder C.A. & LeSage M.G. (2007). Effects of the selective dopamine D3 receptor antagonist SB-277011A on the reinforcing effects of nicotine as measured by a progressive-ratio schedule in rats. *European Journal of Pharmacology*, 559 (2-3), 173-179.
- Rotshteyn Y., Boyd T.A. & Yuan C.S. (2011). Methylalntrexone bromide: research update of pharmacokinetics following parenteral administration. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 7 (2), 227-35.
- Routtenberg A. & Lindy J. (1965). Effects of the availability of rewarding septal and hypothalamic stimulation on bar pressing for food under conditions of deprivation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 60 (2), 158-161.
- Routtenberg A. (1976). Self-stimulation Pathways: Origins and Termination –a three stage technique-. En: Wauquier A. & Rolls, E.T. (Ed.). *Brain-Stimulation Reward*. North-Holland Publishing Company. Cap. 2.

- Rozin P. & Kalat J.W. (1971). Specific hungers and poison avoidance as adaptative specializations of learning. *Psychological Review*, 78 (6), 459-486.
- Ruffin M. & Nicolaidis S. (1999). Electrical stimulation of the ventromedial hypothalamus enhances both fat utilization and metabolic rate that precede and parallel the inhibition of feeding behavior. *Brain Research*, 846 (1), 23-29.
- Ruiz-Medina J., Morgado-Bernal I., Redolar-Ripoll D., Aldavert-Vera L. & Segura-Torres P. (2008). Intracranial self-stimulation facilitates a spatial learning and memory task in the Morris water maze. *Neuroscience*, 154 (2), 424-430.
- Saal D. & Malenka R.C. (2005). The role of synaptic plasticity in addiction. *Clinical Neuroscience Research*, 5, 141-146.
- Saitoh Y. & Inokuchi K. (2000). A triphasic curve characterizes the retention of lever-pressing behavior rewarded by lateral hypothalamic stimulation during the immediate-post-trial period in rats: implications for a transient-intermediate stage between short- and long-term memory. *Neuroscience Research*, 37 (3), 211-219.
- Sakai N. & Yamamoto T. (1997). Conditioned taste aversion and c-fos expression in the rat brainstem after administration of various U.S.s. *NeuroReport*, 8 (9), 2215-2220.
- Sakai N. & Yamamoto T. (1998). Role of the medial and lateral parabrachial nucleus in acquisition and retention of conditioned taste aversion in rats. *Behavioral Brain Research*, 93, 63-70.
- Sakai N. & Yamamoto T. (1999). Possible routes of visceral information in the rat brain in formation of conditioned taste aversion. *Neuroscience Research*, 35 (1), 53-61.
- Sakoori K. & Murphy N.P. (2008). Expression of morphine-conditioned place preference is more vulnerable than naloxone-conditioned place aversion to disruption by nociceptin in mice. *Neuroscience Letters*, 443 (2), 108-112.
- Salamone J.D. (1992). Complex motor and sensorimotor functions of striatal and accumbens dopamine: involvement in instrumental behavior processes. *Psychopharmacology*, 107 (2-3), 160-174.
- Salamone J.D. (1994). The involvement of nucleus accumbens dopamine in appetitive and aversive motivation. *Behavioural Brain Research*, 61, 117-133.
- Salamone J.D. (2002). Functional significance of nucleus accumbens dopamine: behavior, pharmacology and neurochemistry. *Behavioural Brain Research*, 137 (1-2), 1.
- Salamone J.D. (2009). Dopamine, effort, and decision making: theoretical comment on Bardgett et al. (2009). *Behavioral Neuroscience*, 123 (2), 463-467.
- Salamone J.D., Correa M., Mingote S. & Weber S.M. (2003). Nucleus accumbens dopamine and the regulation of effort in food-seeking behavior: implications for studies of natural motivation, psychiatry, and drug abuse. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 305 (1), 1-8.
- Salamone J.D., Cousins M.S. & Snyder B.J. (1997). Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 21 (3), 341-359.
- Saleh T.M. & Cechetto D.F. (1993). Peptides in the parabrachial nucleus modulate visceral input to the thalamus. *The American Journal of Physiology*, 264, R668-R675.

- Saleh T.M. & Cechetto D.F. (1996). Peptide changes in the parabrachial nucleus following cervical vagal stimulation. *The Journal of Comparative Neurology*, 366 (3), 390-405.
- Sánchez-Catalán M.J., Hipólito L., Zornoza T., Polache A. & Granero L. (2009). Motor stimulant effects of ethanol and acetaldehyde injected into the posterior ventral tegmental area of rats: role of opioid receptors. *Psychopharmacology*, 204 (4), 641-653.
- Sandner G., Di Scala G., Rocha B. & Angst M.J. (1992). C-fos immunoreactivity in the brain following unilateral electrical stimulation of the dorsal periaqueductal gray in freely moving rats. *Brain Research*, 573 (2), 276-283.
- Sanger D.J. (1987). The actions of SCH 23390, a D1 receptor antagonist, on operant and avoidance behavior in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 26, 509-513.
- Sanides F. (1968). The architecture of the cortical taste nerve areas in squirrel monkey (*Saimiri sciureus*) and their relationships to insular, sensorimotor and prefrontal regions. *Brain Research*, 8 (1), 97-124.
- Sante A.B., Nobre M.J. & Brandão M.L. (2000). Place aversion induced by blockade of mu or activation of kappa opioid receptors in the dorsal periaqueductal gray matter. *Behavioural Pharmacology*, 11 (7-8), 583-589.
- Santi A.N. & Parker L.A. (2001). The dopamine antagonist, alpha-flupenthixol, interferes with naloxone-induced place aversion learning, but not with acute opiate dependence in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 70, 193-197.
- Santiago A.C. & Shammah-Lagnado S.J. (2005). Afferent connections of the amygdalopiriform transition area in the rat. *The Journal of comparative Neurology*, 489, 349-371.
- Saper C.B. & Loewy A.D. (1980). Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Research*, 197 (2), 291-317.
- Saper C.B. (1982). Reciprocal Parabrachial-Cortical connections in the rat. *Brain Research*, 242, 33-40.
- Saper C.B. (1995a). Central Autonomic System. En: Paxinos G.: *The rat nervous system, Second Edition*. Academic Press. pp. 107-128.
- Saper C.B. (1995b). The Spinoparabrachial Pathway: Shedding new light on an old path. *The Journal of Comparative Neurology*, 353 (4), 477-479.
- Saper C.B. (2002). The central autonomic nervous system: conscious visceral perception and autonomic pattern generation. *Annual Review of Neuroscience*, 25, 433-469.
- Saper C.B. (2004). Central Autonomic System. En: Paxinos G. & Mai K.: *The rat nervous system, Third Edition*. Elsevier. pp. 761-796.
- Saper C.B. y Loewy A.D. (1982). Projections of the pedunculo-pontine tegmental nucleus in the rat: evidence for additional extrapyramidal circuitry. *Brain Research*, 252, 367-372.
- Saper C.B., Chou T.C. & Elmquist J.K. (2002). The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron*, 36, 199-211.
- Sarhan M., Freund-Mercier M.J. & Veinante P. (2005). Branching patterns of parabrachial neurons projecting to the central extended amygdala: single axonal reconstructions. *The Journal of Comparative Neurology*, 491 (4), 418-442.

- Satoh M., Kubota A., Iwama T., Wada T., Yasui M., Fujibayashi K. & Takagi H. (1983). Comparison of analgesic potencies of mu, delta and kappa agonist locally applied to various CNS regions relevant to analgesia in rats. *Life Sciences*, 33 (Supl. 1), 689-692.
- Scalera G. (2002) Effects of conditioned food aversions on nutritional behavior in humans. *Nutritional Neuroscience*, 5 (3), 159-188.
- Scatton B., Cohen C., Perrault G., Oblin A., Claustre Y., Schoemaker H., Sanger D.J., Rouquier L. & Porsolt R. (2001). The preclinical pharmacologic profile of tiapride. *European Psychiatry*, 16 (Supl. 1), 29-34.
- Schachter S.C. & Saper C.B. (1998). Progress in epilepsy research. Vagus nerve stimulation. *Epilepsia*, 39 (7), 677-686.
- Schachter S.C. (2004). Vagus nerve stimulation: mood and cognitive effects. *Epilepsy and Behavior*, 5, 56-59.
- Schacter D.L. (1992). Implicit knowledge: new perspectives on unconscious processes. *PNAS*, 89 (23), 11113-11117.
- Schaefer G.J. & Michael R.P. (1983). Morphine withdrawal produces differential effects on the rate of lever-pressing for brain self-stimulation in the hypothalamus and midbrain in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 18 (4), 571-577.
- Schaefer G.J. & Michael R.P. (1985a). Effects of opioid antagonists and their quaternary derivatives on locomotor activity and fixed ratio responding for brain self-stimulation in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 23 (5), 797-802.
- Schaefer G.J. & Michael R.P. (1985b). The discriminative stimulus properties and detection thresholds of intracranial self-stimulation: effects of d-amphetamine, morphine, and haloperidol. *Psychopharmacology*, 85 (3), 289-294.
- Schaefer G.J. & Michael R.P. (1986). Changes in response rates and reinforcement thresholds for intracranial self-stimulation during morphine withdrawal. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 25 (6), 1263-1269.
- Schaefer G.J. & Michael R.P. (1988). Naloxone and diprenorphine reduce responding for brain self-stimulation in a fixed-ratio schedule in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 29 (1), 209-212.
- Schafe G.E. & Bernstein I.L. (1998). Forebrain contribution to the induction of a brainstem correlate of conditioned taste aversion II. Insular (gustatory) cortex. *Brain Research*, 800 (1), 40-47.
- Schechter M.D. & Calcagnetti D.J. (1998). Continued trends in the conditioned place preference literature from 1992 to 1996, inclusive, with a cross-indexed bibliography. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 22 (6), 827-846.
- Schildein S., Agmo A., Huston J.P. & Schwarting R.K.W. (1998). Intraaccumbens injections of substance P, morphine and amphetamine: effects on conditioned place preference and behavioural activity. *Brain Research*, 790, 185-194.
- Schmidt R., Morris G., Hagen E.H., Sullivan R.J., Hammerstein P. & Kempter R. (2009). The dopamine puzzle. *PNAS*, 106 (27), E75.
- Schmitt P. & Karli P. (1984). Interactions between aversive and rewarding effects of hypothalamic stimulations. *Physiology & Behavior*, 32 (4), 617-627.

- Schroeder J.P. & Packard M.G. (2000). Role of dopamine receptor subtypes in the acquisition of a testosterone conditioned place preference in rats. *Neuroscience Letters*, 282 (1-2), 17-20.
- Schulteis G., Heyser C.J. & Koob G.F. (1997). Opiate withdrawal signs precipitated by naloxone following a single exposure to morphine: potentiation with a second morphine exposure. *Psychopharmacology*, 129, 56-65.
- Schulteis G., Liu J., Amitai N. & Tzeng S. (2005). Context- and cue-conditioned potentiation of acute morphine dependence and withdrawal. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 82, 82-89.
- Schulteis G., Markou A., Gold L.H., Stinus L. & Koob G.F. (1994). Relative sensitivity to naloxone of multiple indices of opiate withdrawal: a quantitative dose-response analysis. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 271 (3), 1391-1398.
- Schultz W. (2002). Getting formal with Dopamine and Reward. *Neuron*, 36, 241-263.
- Schultz W. (2006). Behavioral theories and the neurophysiology of reward. *Annual Review of Psychology*, 57, 87-115.
- Schultz W., Apicella P. & Ljungberg T. (1993). Responses of monkey dopamine neurons to reward and conditioned stimuli during successive steps of learning a delayed response task. *The Journal of Neuroscience*, 13 (3), 900-913.
- Schwartz G.J. (2000). The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: Current Prospects. *Nutrition*, 16, 866-873.
- Scott M.M., Lachey J.L., Sternson S.M., Lee C.E., Elias C.F., Friedman J.M. & Elmquist J.K. (2009). Leptin targets in the mouse brain. *The Journal of Comparative Neurology*, 514 (5), 518-32.
- Scott T.R. & Small D.M. (2009). The role of the parabrachial nucleus in taste processing and feeding. *Annals of the New York Academy of Science*, 1170, 372-377.
- See R.E., Kruzich P.J. & Grimm J.W. (2001). Dopamine, but not glutamate, receptor blockade in the basolateral amygdala attenuates conditioned reward in a rat model of relapse to cocaine-seeking behaviour. *Psychopharmacology*, 154 (3), 301-310.
- Sell L.A., Morris J.S., Bearn J., Frackowiak R.S.J., Friston K.J. & Dolan R.J. (2000). Neural responses associated with cue evoked emotional states and heroin in opiate addicts. *Drug and Alcohol Dependence*, 60, 207-216.
- Seward J.P., Uyeda A. & Old J. (1959). Resistance to extinction following cranial self-stimulation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 52 (3), 294-299.
- Seward T.V. (2004). Dual separate pathways for sensory and hedonic aspects of taste. *Brain Research Bulletin*, 62, 271-283.
- Sewards T.V. & Sewards M.A. (2001). Cortical association areas in the gustatory system. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 25 (5), 395-407.
- Shen K.F. & Crain S.M. (1997). Ultra-low doses of naltrexone or etorphine increase morphine's antinociceptive potency and attenuate tolerance/dependence in mice. *Brain Research*, 757 (2), 176-190.
- Shi C.J. & Cassell M.D. (1998a). Cortical, thalamic, and amygdaloid connections of the anterior and posterior insular cortices. *The Journal of Comparative Neurology*, 399, 440-468.

- Shi C.J. & Cassell M.D. (1998b). Cascade projections from somatosensory cortex to the rat basolateral amygdala via the parietal insular cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, 399, 469-491.
- Shide D.J. & Blass E.M. (1991). Opioid mediation of odor preference induced by sugar and fat in 6-day-old rat. *Physiology & Behavior*, 50, 961-966.
- Shimura T., Suzuki M. & Yamamoto T. (1995). Aversive taste stimuli facilitate extracellular acetylcholine release in the insular gustatory cortex of the rat: a microdialysis study. *Brain Research*, 679, 221-226.
- Shin J.W., Geerling J.C. & Loewy A.D. (2008). Inputs to the ventrolateral bed nucleus of the stria terminalis. *The Journal of Comparative Neurology*, 511 (5), 628-657.
- Shin L.M., Dougherty D.D., Orr S.P., Pitman R.K., Lasko M., Macklin M.L., Alpert N.M., Fischman A.J. & Rauch S.L. (2000). Activation of anterior paralimbic structures during guilt-related script-driven imagery. *Biological Psychiatry*, 48, 43-50.
- Shippenberg T.S. & Elmer G.I. (1998). The neurobiology of opiate reinforcement. *Critical Reviews in Neurobiology*, 12 (4), 267-303.
- Shippenberg T.S. & Herz A. (1987). Place preference conditioning reveals the involvement of D1-dopamine receptors in the motivational properties of μ - and κ -opioid agonist. *Brain Research*, 436, 169-172.
- Shippenberg T.S., Bals-Kubik R. & Herz A. (1987). Motivational properties of opioids: evidence that an activation of δ -receptors mediates reinforcement processes. *Brain Research*, 436, 234-239.
- Shippenberg T.S., Bals-Kubik R. & Herz A. (1993). Examination of the neurochemical substrates mediating the motivational effects of opioids: role of the mesolimbic dopamine system and D-1 vs. D-2 dopamine receptors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 265 (1), 53-59.
- Shippenberg T.S., Chefer V.I., Zapata A. & Heidbreder C.A. (2001). Modulation of the behavioural and neurochemical effects of psychostimulants by κ -opioid receptor systems. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 937, 50-73.
- Shippenberg T.S., Emmett-Oglesby M.W., Ayesta F.J. & Herz A. (1988a). Tolerance and selective cross-tolerance to the motivational effects of opioids. *Psychopharmacology*, 96 (1), 110-115.
- Shippenberg T.S., Millan M.J., Mucha R.F. & Herz A. (1988b). Involvement of β -endorphin and μ -opioid receptors in mediating the aversive effect of lithium in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 154, 135-144.
- Shippenberg T.S., Stein C., Huber A. Millan M.J. & Herz A. (1988c). Motivational effects of opioid in an animal model of prolonged inflammatory pain: alteration in the effects of kappa- but not of mu-receptor agonist. *Pain*, 35 (2), 179-186.
- Shoblock J.R. & Maidment N.T. (2006). Constitutively active micro opioid receptors mediate the enhanced conditioned aversive effect of naloxone in morphine-dependent mice. *Neuropsychopharmacology*, 31 (1), 171-177.
- Shohamy D., Allen M.T. & Gluck M.A. (2000). Dissociating entorhinal and hippocampal involvement in latent inhibition. *Behavioral Neuroscience*, 114 (5), 867-874.
- Siegel S. & Ramos B.M.C. (2002). Applying laboratory research: drug anticipation and the treatment of drug addiction. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 10 (3), 162-183.
- Siegel S. (1999). Drug anticipation and drug addiction. The 1998 H. David Archibald Lecture. *Addiction*, 94 (8), 1113-1124.

- Siegel S., Baptista M.A.S., Kim J.A., McDonald R.V. & Weise-Kelly L. (2000). Pavlovian psychopharmacology: the associative basis of tolerance. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 8 (3), 276-293.
- Silveira M.C., Sandner G. & Graeff F.G. (1993). Induction of Fos immunoreactivity in the brain by exposure to the elevated plus-maze. *Behavioural Brain Research*, 56 (1), 115-118.
- Silveira M.C., Sandner G., Di Scala G. & Graeff F.G. (1995). C-fos immunoreactivity in the brain following electrical or chemical stimulation of the medial hypothalamus of freely moving rats. *Brain Research*, 674 (2), 265-274.
- Silveira M.C., Zangrossi H., de Barros Viana M., Silveira R. & Graeff F.G. (2001). Differential expression of Fos protein in the rat brain induced by performance of avoidance or escape in the elevated T-maze. *Behavioural Brain Research*, 126 (1-2), 13-21.
- Simón M.J. (2003). *Efectos comportamentales de la activación del complejo parabraquial troncoencefálico: relevancia del subnúcleo lateral externo en el aprendizaje espacial y gustativo inducido por estimulación*. Tesis doctoral. Universidad de Granada, España.
- Simón M.J., García R., Zafra M.A., Molina F. & Puerto A. (2007). Learned preferences induced by electrical stimulation of a food-related area of the parabrachial complex: effects of naloxone. *Neurobiology of Learning and Memory*, 87 (3), 332-342.
- Simón M.J., Molina F. & Puerto A. (2009). Conditioned place preference but not rewarding self-stimulation after electrical activation of the external lateral parabrachial nucleus. *Behavioral Brain Research*, 205 (2), 443-449.
- Simón M.J., Zafra M.A., Molina F. & Puerto A. (2008). Consistent rewarding or aversive effects of the electrical stimulation of the lateral parabrachial complex. *Behavioral Brain Research*, 190, 67-73.
- Simonnet G. & Rivat C. (2003). Opioid-induced hyperalgesia: abnormal or normal pain?. *NeuroReport*, 14 (1), 1-7.
- Singh J., Desiraju T. & Raju T.R. (1997a). Dopamine receptor sub-types involvement in nucleus accumbens and ventral tegmentum but not in medial prefrontal cortex: on self-stimulation of lateral hypothalamus and ventral mesencephalon. *Behavioural Brain Research*, 86 (2), 171-179.
- Singh J., Desiraju T., Nagaraja T.N. & Raju T.R. (1994). Facilitation of self-stimulation of ventral tegmentum by microinjection of opioid receptor subtype agonists. *Physiology & Behavior*, 55 (4), 627-631.
- Singh J., Desiraju T., Raju T.R. (1997b). Effects of microinjections of cholecystokinin and neurotensin into lateral hypothalamus and ventral mesencephalon on intracranial self-stimulation. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 58 (4), 893-898.
- Sinnott R.S., Mach R.H. & Nader M.A. (1999). Dopamine D2/D3 receptors modulate cocaine's reinforcing and discriminative stimulus effects in rhesus monkeys. *Drug and Alcohol Dependence*, 54 (2), 97-110.
- Skirboll L., Hökfelt T., Dockray G., Rehfeld J., Brownstein M. & Cuello A.C. (1983). Evidence for periaqueductal cholecystokinin-substance P neurons projecting to the spinal cord. *The Journal of Neuroscience*, 3 (6), 1151-1157.
- Sklair-Tavron L., Shi W., Lane A.B., Harris H.W., Bunney B. & Nestler E.J. (1996). Chronic morphine induces visible changes in the morphology of mesolimbic dopamine neurons. *PNAS*, 93, 11202-11207.

- Skoubis P.D., Matthes H.W., Walwyn W.M., Kieffer B.L. & Maidment N.T. (2001). Naloxonen fails to produce conditioned place aversion in μ -opioid receptor knock-out mice. *Neuroscience*, 106 (4), 757-763.
- Slugg R.M. & Light A.R. (1994). Spinal cord and trigeminal projections to the pontine parabrachial region in the rat as demonstrated with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *The Journal of Comparative Neurology*, 339 (1), 49-61.
- Small D.M., Jones-Gotman M., Zatorre R.J., Petrides M. & Evans A.C. (1997). A role for the right anterior temporal lobe in taste quality recognition. *The Journal of Neuroscience*, 17 (13), 5136-5142.
- Small D.M., Zald D.H., Jones-Gotman M., Zatorre R.J., Pardo J.V., Frey S. & Petrides M. (1999). Human cortical gustatory areas: a review of functional neuroimaging data. *NeuroReport*, 10, 7-14.
- Small D.M., Zatorre R.J., Dagher A., Evans A.C. & Jones-Gotman M. (2001). Changes in brain activity related to eating chocolate. From pleasure to aversion. *Brain*, 124, 1720-1733.
- Smith D.V., Liu H. & Vogt M.B. (1994). Neural coding of aversive and appetitive gustatory stimuli: Interactions in the hamster brain stem. *Physiology & Behavior*, 56 (6), 1189-1196.
- Smith J.E., Co C., Freeman M.E. & Lane J.D. (1982). Brain neurotransmitter turnover correlated with morphine-seeking behavior of rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 16, 509-519.
- Smith J.W., Fetsko L.A., Xu R. & Wang Y. (2002). Dopamine D2L receptor knockout mice display deficits in positive and negative reinforcing properties of morphine and in avoidance learning. *Neuroscience*, 113 (4), 755-765.
- Soares K.V. & McGrath J.J. (1999). The treatment of tardive dyskinesia - a systematic review and meta-analysis. *Schizophrenia Research*, 39 (1), 1-16.
- Söderpalm A.H. & Berridge K.C. (2000). The hedonic impact and intake of food are increased by midazolam microinjection in the parabrachial nucleus. *Brain Research*, 877 (2), 288-297.
- Sokolowski J.D., Conlan A.N. & Salamone J.D. (1998). A microdialysis study of nucleus accumbens core and shell dopamine during operant responding in the rat. *Neuroscience*, 86 (3), 1001-1009.
- Solecki W., Turek A., Kubik J. & Przewlocki R. (2009). Motivational effects of opiates in conditioned place preference and aversion paradigm - a study in three inbred strains of mice. *Psychopharmacology*, 207 (2), 245-255.
- Sørensen G., Sager T.N., Petersen J.H., Brennum L.T., Thøgersen P., Hee Bengtsen C., Thomsen M., Wörtwein G., Fink-Jensen A. & Woldbye D.P. (2008). Aripiprazole blocks acute self-administration of cocaine and is not self-administered in mice. *Psychopharmacology*, 199 (1), 37-46.
- Sosnowski M. & Yaksh T.L. (1990). Differential cross-tolerance between intrathecal morphine and sufentanil in the rat. *Anesthesiology*, 73 (6), 1141-1147.
- Soyka M., Morhart-Klute V. & Horak M. (2002). A combination of carbamazepine/tiapride in outpatient alcohol detoxification. Results from an open clinical study. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 252 (5), 197-200.
- Spies G. (1965). Food versus Intracranial Self-Stimulation Reinforcement in food-deprived rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 60 (2), 153-157.
- Spiteri T., Le Pape G. & Agmo A. (2000). What is learned during place preference conditioning? A comparison of food- and morphine-induced reward. *Psychobiology*, 28 (3), 367-382.

- Spivak K.J. & Amit Z. (1986). Effects of pimocide on appetitive behavior and locomotor activity: Dissimilarity of effects when compared to extinction. *Physiology & Behavior*, 36, 457-463.
- Spyraki C., Fibiger H.C. & Phillips A.G. (1982). Attenuation by haloperidol of place preference conditioning using food reinforcement. *Psychopharmacology*, 77, 379-382.
- Spyraki C., Fibiger H.C. & Phillips A.G. (1983). Attenuation of heroin reward in rats by disruption of the mesolimbic dopamine system. *Psychopharmacology*, 79, 278-283.
- Stefanski R., Justinova Z., Hayashi t., Takebayashi M., Goldberg S.R. & Su T.P. (2004). Sigma₁ receptor upregulation after chronic methamphetamine self-administration in rats: a study with yoked controls. *Psychopharmacology*, 175, 68-75.
- Stefanski R., Ladenheim B., Lee B.H., Cadet J.L. & Goldberg S.R. (1999). Neuroadaptations in the dopaminergic system after active self-administration but not after passive administration of methamphetamine. *European Journal of Pharmacology*, 371, 123-135.
- Stefanski R., Ziólkowska B., Kusmider M., Mierzejewski P., Wyszogradzka E., Kolomanska P., Dziedzicka-Wasylewska M., Przewlocki R. & Kostowski W. (2007). Active versus passive cocaine administration: Differences in the neuroadaptive changes in the brain dopaminergic system. *Brain Research*, 1157, 1-10.
- Stein L. (1965). Facilitation of avoidance behavior by positive brain stimulation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 60, 9-19.
- Stein M.B., Simmons A.N., Feinstein J.S. & Paulus M.P. (2007). Increased amygdala and insula activation during emotion processing in anxiety-prone subjects. *The American Journal of Psychiatry*, 164 (2), 318-327.
- Stein M.K. & Loewy A.D. (2010). Area postrema projects to FoxP2 neurons of the pre-locus coeruleus and parabrachial nuclei: brainstem sites implicated in sodium appetite regulation. *Brain Research*, 1359, 116-127.
- Steiner S.S., Beer H. & Shaffer M.M. (1969). Escape from self-produced rates of brain stimulation. *Science*, 163, 90-91.
- Stellar J.R. & Gallistel C.R. (1975). Runway performance of rats for brain-stimulation or food reward: effects of hunger and priming. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 89 (6), 590-599.
- Stellar J.R. & Neeley S.P. (1982). Reward summation function measurements of Lateral Hypothalamic stimulation reward: Effects of Anterior and Posterior Medial Bundle lesion. En: Hoebel B.G. & Novin D. (Eds.). *The Neural Basis of Feeding and Reward*. Haer Institute for Electrophysiological Research. pp. 431-444.
- Stellar J.R. & Rice M.B. (1989). Pharmacological basis of intracranial self-stimulation. En: Liebman J.M. & Cooper S.J. (1989). *The Neuropharmacological Basis of Reward*. Oxford University Press. Cap. 2. pp 14-65.
- Stephens D.N. & Herberg L.J. (1975). Catecholamines and self-stimulation: pharmacological differences between near- and far-lateral hypothalamic sites. *Brain Research*, 90 (2), 348-351.
- Stiglick A. & White N. (1977). Effects of lesions of various medial forebrain bundle components on lateral hypothalamic self-stimulation. *Brain Research*, 133 (1), 45-63.
- Stinus L., Caille S. & Koob G.F. (2000). Opiate withdrawal-induced place aversion lasts for up to 16 weeks. *Psychopharmacology*, 149, 115-120.

- Stinus L., Le Moal M. & Koob G.F. (1990). Nucleus accumbens and amygdala are possible substrates for the aversive stimulus effects of opiate withdrawal. *Neuroscience*, 37 (3), 767-773.
- Stolerman I.P. (1985). Motivational effects of opioids: Evidence on the role of endorphins in mediating reward or aversion. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 23, 877-881.
- Straub C.J., Carlezon W.A. Jr. & Rudolph U. (2010). Diazepam and cocaine potentiate brain stimulation reward in C57BL/6J mice. *Behavioural Brain Research*, 206 (1), 17-20.
- Stuber G.D., Roitman M.F., Phillips P.E.M., Carelli R.M. & Wightman R.M. (2005). Rapid dopamine signaling in the nucleus accumbens during contingent and noncontingent cocaine administration. *Neuropsychopharmacology*, 30, 853-863.
- Suzuki A., Yamane T. & Fushiki T. (2006) Inhibition of fatty acid beta-oxidation attenuates the reinforcing effects and palatability to fat. *Nutrition*, 22 (4), 401-407.
- Suzuki T. & Misawa M. (1995). Sertindole antagonizes morphine-, cocaine-, and methamphetamine-induced place preference in the rat. *Life Sciences*, 57 (13), 1277-1284.
- Swank M.W. & Bernstein I.L. (1994). C-Fos induction in response to a conditioned stimulus after single trial taste aversion learning. *Brain Research*, 636, 202-208.
- Swanson L.W. (1982). The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Research Bulletin*, 9 (1-6), 321-353.
- Takahashi H., Matsuura M., Koeda M., Yahata N., Suhara T., Kato M. & Okubo Y. (2008). Brain activations during judgments of positive self-conscious emotion and positive basic emotion: pride and joy. *Cerebral Cortex*, 18 (4), 898-903.
- Takenoya F., Yagi M., Kageyama H., Shiba K., Endo K., Nonaka N., Date Y., Nakazato M. & Shioda S. (2010). Distribution of neuropeptide W in the rat brain. *Neuropeptides*, 44 (2), 99-106.
- Takeuchi Y., Xie Q., Miki T., Matsumoto Y., Satriotomo I., Li H.P. & Gu H. (2004). Parabrachial inputs to Fos-immunoreactive neurons in the lateral central nucleus of amygdala activated by hypotension: a light and electron microscopic study in the rat. *Brain Research Bulletin*, 64 (2), 171-180.
- Tan K.R., Brown M., Labouèbe G., Yvon C., Creton C., Fritschy J.M., Rudolph U. & Lüscher C. (2010). Neural bases for addictive properties of benzodiazepines. *Nature*, 463 (7282), 769-774.
- Tanaka J., Miyakubo H., Kawakami A., Hayashi Y. & Nomura M. (2006). Involvement of NMDA receptor mechanisms in the modulation of serotonin release in the lateral parabrachial nucleus in the rat. *Brain Research Bulletin*, 71 (1), 311-315.
- Tanda G., Pontieri F.E. & Di Chiara G. (1997). Cannabinoid and heroin activation of mesolimbic dopamine transmission by a common mu1 opioid receptor mechanism. *Science*, 276 (5321), 2048-2050.
- Tapert S.F., Brown G.G., Baratta M.V. & Brown S.A. (2004). fMRI BOLD response to alcohol stimuli in alcohol dependent young women. *Addictive Behaviors*, 29, 33-50.
- Tataranni P.A., Gautier J.F., Chen K., Uecker A., Bandy D., Salbe A.D., Pratley R.E., Lawson M., Reiman E.M. & Ravussin E. (1999). Neuroanatomical correlates of hunger and satiation in humans using positron emission tomography. *PNAS*, 96 (8), 4569-4574.

- Taylor D.A. & Fleming W.W. (2001). Unifying perspectives of the mechanisms underlying the development of tolerance and physical dependence to opioids. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 297 (1), 11-18.
- Taylor J.R. & Robbins T.W. (1984). Enhanced behavioural control by conditioned reinforcers following microinjections of d-amphetamine into the nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, 84, 405-412.
- Tehovnik E.J. (1996). Electrical stimulation of neural tissue to evoke behavioral responses. *Journal of Neuroscience Methods*, 65, 1-17.
- Terry A.V. Jr., Hill W.D., Parikh V., Waller J.L., Evans D.R. & Mahalik S.P. (2003). Differential effects of haloperidol, risperidone, and clozapine exposure on cholinergic markers and spatial learning performance in rats. *Neuropsychopharmacology*, 28 (2), 300-309.
- Thanos P.K., Katana J.M., Ashby C.R. Jr., Michaelides M., Gardner E.L., Heidbreder C.A. & Volkow N.D. (2005). The selective dopamine D3 receptor antagonist SB-277011-A attenuates ethanol consumption in ethanol preferring (P) and non-preferring (NP) rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 81 (1), 190-197.
- Thierry A.M., Tassin J.P., Blanc G. & Glowinski J. (1976). Selective activation of the mesocortical DA system by stress. *Nature*, 263, 242-263.
- Thomsen M., Hall F.S., Uhl G.R. & Caine S.B. (2009). Dramatically decreased cocaine self-administration in dopamine but not serotonin transporter knock-out mice. *The Journal of Neuroscience*, 29 (4), 1087-1092.
- Tiffany S.T., Drobos D.J. & Cepeda-Benito A. (1992). Contribution of associative and nonassociative processes to the development of morphine tolerance. *Psychopharmacology*, 109, 185-190.
- Toates F. (1989). *Sistemas motivacionales*. En: Gray J. (Ed.). Debate (1ª edición en castellano).
- Toates F. (2001). *Biological psychology: an integrative approach*. En: Toates F. (Ed.). Prentice Hall, cap. 16 (pp. 387-412).
- Tobler P.N., Fiorillo C.D. & Schultz W. (2005). Adaptive coding of reward value by dopamine neurons. *Science*, 307, 1642-1645.
- Todtenkopf M.S., Marcus J.F., Portoghese P.S. & Carlezon W.A. (2004). Effects of K-opioid receptor ligands on intracranial self-stimulation in rats. *Psychopharmacology*, 172, 463-470.
- Todtenkopf M.S., O'Neill K.S., Kriksiukaite K., Turncliff R.Z., Dean R.L., Ostrovsky-Day I. & Deaver D.R. (2009). Route of administration affects the ability of naltrexone to reduce amphetamine-potentiated brain stimulation reward in rats. *Addiction Biology*, 14 (4), 408-418.
- Tokita K., Inoue T. & Boughter J.D. Jr. (2009). Afferent connections of the parabrachial nucleus in C57BL/6J mice. *Neuroscience*, 161 (2), 475-488.
- Tokita K., Inoue T. & Boughter J.D. Jr. (2010). Subnuclear organization of parabrachial efferents to the thalamus, amygdala and lateral hypothalamus in C57BL/6J mice: a quantitative retrograde double labeling study. *Neuroscience*, 171 (1), 351-365.
- Tokita K., Shimura T., Nakamura S., Inoue T. & Yamamoto T. (2007). Involvement of forebrain in parabrachial neuronal activation induced by aversively conditioned taste stimuli in the rat. *Brain Research*, 1141, 188-196.

- Tolman E.C. & Gleitman H. (1949). Studies in spatial learning: VII. Place and response learning under different degrees of motivation. *Journal of Experimental Psychology*, 39 (5), 653-659.
- Tolman E.C. & Honzik C.H. (1930a). Insight in rats. *University of California Publications in Psychology*, 4, 215-232.
- Tolman E. C. & Honzik, C. H. (1930b). *Introduction and removal of reward, and maze performance in rats.* University of California Publications in Psychology, 4, pp. 257-275.
- Tolman E. C., Ritchie, B. F., & Kalish, D. (1946a). Studies in spatial learning: I. Orientation and the short-cut. *Journal of Experimental Psychology*, 36, 13-24.
- Tolman E. C., Ritchie, B. F., & Kalish, D. (1946b). Studies in spatial learning: II. Place learning versus response learning. *Journal of Experimental Psychology*, 36, 221-229.
- Tolman E. C., Ritchie, B. F., & Kalish, D. (1947a). Studies in spatial learning: IV. The transfer of place learning to other starting paths. *Journal of Experimental Psychology*, 37 (1), 39-47.
- Tolman E. C., Ritchie, B. F., & Kalish, D. (1947b). Studies in spatial learning: V. response learning vs. place learning by the non-correction method. *Journal of Experimental Psychology*, 37 (4), 285-292.
- Tomasiewicz H.C., Todtenkopf M.S., Chartoff E.H., Cohen B.M. & Carlezon W.A. Jr. (2008). The kappa-opioid agonist U69,593 blocks cocaine-induced enhancement of brain stimulation reward. *Biological Psychiatry*, 64 (11), 982-8.
- Tombaugh T.N., Szostak C. & Mills P. (1983). Failure of Pimocide to Disrupt the Acquisition of Light-Dark and Spatial Discrimination Problems. *Psychopharmacology*, 79, 161-168.
- Tomie A., di Poce J., Derenzo C.C. & Pohorecky L.A. (2002). Autoshaping of ethanol drinking: an animal model of binge drinking. *Alcohol & Alcoholism*, 37 (2), 138-146.
- Toth M., Fuzesi T., Halasz J., Tulogdi A. & Haller J. (2010). Neural inputs of the hypothalamic "aggression area" in the rat. *Behavioural Brain Research*, 215 (1), 7-20.
- Treede R.D., Apkarian A.V., Bromm B., Greenspan J.D. & Lenz F.A. (2000). Cortical representation of pain: functional characterization of nociceptive areas near the lateral sulcus. *Pain*, 87, 113-119.
- Treit D. & Berridge K.C. (1990). A comparison of benzodiazepine, serotonin, and dopamine agents in the Taste-Reactivity Paradigm. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 37, 451-456.
- Trojnar W., Plucińska K., Ignatowska-Jankowska B. & Jankowski M. (2007). Damage to the nucleus accumbens shell but not core impairs ventral tegmental area stimulation-induced feeding. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 58 (Supl. 3), 63-71.
- Trujillo K.A., Belluzzi J.D. & Stein L. (1991). Naloxone blockade of amphetamine place preference conditioning. *Psychopharmacology*, 104, 265-274.
- Turchan J., Przewlocka B., Toth G., Lason W., Borsod A. & Przewlocki R. (1999). The effect of repeated administration of morphine, cocaine and ethanol on mu and delta opioid receptor density in the nucleus accumbens and striatum of the rat. *Neuroscience*, 91 (3), 971-977.
- Tzschentke T.M. (1998). Measuring reward with the Conditioned Place Preference Paradigm: A comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. *Progress in Neurobiology*, 56, 613-672.
- Ungless M.A. (2004). Dopamine: the salient issue. *TRENDS in Neuroscience*, 27 (12), 702-706.

- Ursin H., Wester K. & Ursin R. (1967). Habituation to electrical stimulation of the brain in unanesthetized cats. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 23, 41-49.
- Usuda I., Tanaka K. & Chiba T. (1998). Efferent projections of the nucleus accumbens in the rat with special reference to subdivision of the nucleus: biotinylated dextran amine study. *Brain Research*, 797 (1), 73-93.
- Valdez G.R., Platt D.M., Rowlett J.K., Rüedi-Bettschen D. & Spealman R.D. (2007). K agonist-induced reinstatement of cocaine seeking in squirrel monkeys: a role for opioid and stress-related mechanisms. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 323, 525-533.
- Van der Kam E.L., De Vry J., Tzschentke T.M. (2008). Differential effects of morphine on the affective and the sensory component of carrageenan-induced nociception in the rat. *Pain*, 136 (3), 373-379.
- Van der Kooy D. & Koda L.Y. (1983). Organization of the projections of a circumventricular organ: the area postrema in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 219 (3), 328-338.
- Van der Kooy D., Fibiger H.C. & Phillips A.G. (1977). Monoamine involvement in hippocampal self-stimulation. *Brain Research*, 136 (1), 119-130.
- Van der Kooy D., Fibiger H.C., Phillips A.G. (1978). An analysis of dorsal and median raphe self-stimulation: effects of parachlorophenylalanine. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 8 (4), 441-445.
- Van der Kooy D., Mucha R.F., O'Shaughnessy M. & Bucenieks P. (1982). Reinforcing effects of brain microinjections of morphine revealed by conditioned place preference. *Brain Research*, 243 (1), 107-117.
- Van Marle H.J., Hermans E.J., Qin S. & Fernández G. (2010). Enhanced resting-state connectivity of amygdala in the immediate aftermath of acute psychological stress. *NeuroImage*, 53 (1), 348-354.
- Van Ree J.M. & Ramsey N. (1987). The dopamine hypothesis of opiate reward challenged. *European Journal of Pharmacology*, 134, 239-243.
- Van Wolfswinkel L. & Van Ree J.M. (1985). Site of rewarding action of morphine in the mesolimbic system determined by intracranial electrical self-stimulation. *Brain Research*, 358, 349-353.
- Van Wolfswinkel L., Seifert W.F. & Van Ree J.M. (1985). Long-term changes in self-stimulation threshold by repeated morphine and naloxone treatment. *Life Science*, 37 (2), 169-176.
- Vanderschuren L.J.M.J., Tjon G.H.K., Nestby P., Mulder A.H., Schoffelmeer A.N.M. & De Vries T.J. (1997). Morphine-induced long-term sensitization to the locomotor effects of morphine and amphetamine depends of the temporal pattern of the pretreatment regimen. *Psychopharmacology*, 131, 115-122.
- Vaughan E. & Fisher A.E. (1962). Male sexual behavior induced by intracranial electrical stimulation. *Science*, 137, 758-60.
- Vekovischeva O.Y., Zamanillo D., Echenko O., Seppälä T., Uusi-Oukari M., Honkanen A., Seeburg P.H., Sprengel R. & Korpi E.R. (2001). Morphine-induced dependence and sensitization are altered in mice deficient in AMPA-type glutamate receptor-A subunits. *The Journal of Neuroscience*, 21 (12), 4451-4459.
- Velázquez-Sánchez C., Ferragud A., Murga J., Cardá M. & Canales J.J. (2010). The high affinity dopamine uptake inhibitor, JHW 007, blocks cocaine-induced reward, locomotor stimulation and sensitization. *European Neuropsychopharmacology*, 20 (7), 501-508.

- Veldhuizen M.G., Nachtigal D., Teulings L., Gitelman D.R. & Small DM. (2010). The insular taste cortex contributes to odor quality coding. *Frontiers in Human Neuroscience*, 4: artículo 58. 11 páginas.
- Vengeliene V., Leonardi-Essmann F., Perreau-Lenz S., Gebicke-Haerter P., Drescher K., Gross G. & Spanagel R. (2006). The dopamine D3 receptor plays an essential role in alcohol-seeking and relapse. *The FASEB Journal*, 20 (13), 2223-2233.
- Ventura R., Morrone C. & Puglisi-Allegra S. (2007). Prefrontal/accumbal catecholamine system determines motivational salience attribution to both reward- and aversion-related stimuli. *PNAS*, 104 (12), 5181-5186.
- Vetulani J. (2001). Drug addiction. Part II. Neurobiology of addiction. *Polish Journal of Pharmacology*, 53 (4), 303-317.
- Viganò D., Rubino T., Di Chiara G., Ascari I., Massi P. & Parolaro D. (2003). Mu opioid receptor signaling in morphine sensitization. *Neuroscience*, 117 (4), 921-929.
- Volkow N.D., Wang G.J., Fischman M.W., Foltin R.W., Fowler J.S., Abumrad N.N., Vitkun S., Logan J., Gatley S.J., Pappas N., Hitzemann R. & Shea C.E. (1997). Relationship between subjective effects of cocaine and dopamine transporter occupancy. *Nature*, 386 (6627), 827-830.
- Volkow N.D., Wang G.J., Fowler J.S., Logan J., Gatley S.J., Gifford A., Hitzemann R., Ding Y.S. & Pappas N. (1999a). Prediction of reinforcing responses to psychostimulants in humans by brain dopamine D2 receptor levels. *The American Journal of Psychiatry*, 156 (9), 1440-1443.
- Volkow N.D., Wang G.J., Fowler J.S., Logan J., Gatley S.J., Wong C., Hitzemann R. & Pappas N.R. (1999b). Reinforcing effects of psychostimulants in humans are associated with increases in brain dopamine and occupancy of D(2) receptors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 291 (1), 409-415
- Vorel S.R., Ashby C.R.J., Paul M., Liu Xinde, Hayes R., Hagan J.J., Middlemiss D.N., Stemp G. & Gardner E.L. (2002). Dopamine D₃ receptor antagonism inhibits cocaine-seeking and cocaine-enhanced brain reward in rats. *The Journal of Neuroscience*, 22 (21), 9595-9603.
- Wadenberg M.L., Ericson E.L., Magnusson O. & Ahlenius S. (1990). Suppression of conditioned avoidance behavior by the local application of (-)sulpiride into the ventral, but not the dorsal, striatum of the rat. *Biological Psychiatry*, 28, 297-307.
- Waelti P., Dickinson A. & Schultz W. (2001). Dopamine responses comply with basic assumptions of formal learning theory. *Nature*, 412 (6842), 43-48.
- Walker B.M. & Ettenberg A. (2007). Intracerebroventricular ethanol-induced conditioned place preferences are prevented by fluphenazine infusions into the nucleus accumbens of rats. *Behavioral Neuroscience*, 121 (2), 401-410.
- Wang D., Raehal K.M., Lin E.T., Lowery J.J., Kieffer B.L., Bilsky E.J. & Sadée W. (2004). Basal signaling activity of μ opioid receptor in mouse brain: Role in narcotic dependence. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 308 (2), 512-520.
- Wang D., Sun X. & Sadée W. (2007). Different effects of opioid antagonists on μ -, δ -, and κ -opioid receptors with and without agonist pretreatment. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 321 (2), 544-552.
- Wang G.J., Volkow N.D., Fowler J.S., Cervany P., Hitzemann R.J., Pappas N.R., Wong C.T. & Felder C. (1999a). Regional brain metabolic activation during craving elicited by recall of previous drug experiences. *Life Science*, 64 (9), 775-784.

- Wang H.Y., Friedman E., Olmstead M.C. & Burns L.H. (2005). Ultra-low-dose naloxone suppresses opioid tolerance, dependence and associated changes in mu opioid receptor-G protein coupling and G β γ signalling. *Neuroscience*, 135, 247-261.
- Wang L., Cardin S., Martinez V., Tache I., Lloyd C.K. (1999b). Duodenal loading with glucose induces Fos expression in rat brain: selective blockade by devazepide. *The American Journal of Physiology*, 277 (3), R667-674.
- Wang S.C. & Borinson H.L. (1951). The vomiting center; its destruction by radon implantation in dog medulla oblongata. *The American Journal of Physiology*, 166 (3), 712-717.
- Wang Z. & Sadée W. (2000). Tolerance to morphine at the mu-opioid receptor differentially induced by cAMP-dependent protein kinase activation and morphine. *European Journal of Pharmacology*, 389 (2-3), 165-171.
- Wang Z., Bilsky E.J., Porreca F. & Sadée W. (1994). Constitutive μ opioid receptor activation as a regulatory mechanism underlying narcotic tolerance and dependence. *Life Science*, 54 (20), 339-350.
- Ward H.G. & Simansky K.J. (2006). Chronic prevention of μ -opioid receptor (MOR) G-protein coupling in the pontine parabrachial nucleus persistently decrease consumption of standard but not palatable food. *Psychopharmacology*, 187, 435-446.
- Wasserman E.M., Gomita Y. & Gallistel C.R. (1982). Pimozide blocks reinforcement but not priming from MFB stimulation in the rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 17 (4), 783-787.
- Watkins S.S., Stinus L., Koob G.F. & Markou A. (2000). Reward and somatic changes during precipitated nicotine withdrawal in rats: centrally and peripherally mediated effects. *The Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 292 (3), 1053-1064.
- Wee S., Wang Z., Woolverton W.L., Pulvirenti L. & Koob G.F. (2007). Effect of aripiprazole, a partial dopamine D2 receptor agonist, on increased rate of methamphetamine self-administration in rats with prolonged session duration. *Neuropsychopharmacology*, 32 (10), 2238-2247.
- Wei H. & Pertovaara A. (2006). Spinal and pontine alpha2-adrenoceptors have opposite effects on pain-related behavior in the neuropathic rat. *European Journal of Pharmacology*, 551 (1-3), 41-49.
- Weiner I., Feldon J. & Katz Y. (1987). Facilitation of the expression but not the acquisition of latent inhibition by haloperidol in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 26, 241-246.
- Weiner N. & Molinoff P.B. (1994). Catecholamines. En: Siegel G.J., Agranoff B.W., Albers R.W. & Molinoff P.B. (Eds.). *Basic Neurochemistry*. New York: Raven Press. pp. 261-281.
- Weingarten H.P., Chang P.K. & McDonald T.J. (1985). Comparison of the metabolic and behavioral disturbances following paraventricular- and ventromedial-hypothalamic lesions. *Brain Research Bulletin*, 14 (6), 551-559.
- Westberg L., Sawa E., Wang A.Y., Gunaydin L.A., Ribeiro A.C. & Pfaff D.W. (2009). Colocalization of connexin 36 and corticotropin-releasing hormone in the mouse brain. *BMC Neuroscience*, 10, 41-47.
- Wetzel M.C. (1963). Self-stimulation aftereffects and runway performance in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 56, 673-678.
- White I.M., Ciancone M.T., Haracz J.L. & Rebec G.V. (1992). A lever-release version of the conditioned avoidance response paradigm: Effects of haloperidol, clozapine, sulpiride, and BMY-14802. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 41, 29-35.

- White N.M. & Carr G.D. (1985). The conditioned place preference is affected by two independent reinforcement processes. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 23, 37-42.
- White N.M. & Milner P.M. (1992). The psychobiology of reinforcers. *Annual Review of Psychology*, 43, 443-471.
- White N.M. (1989). A functional hypothesis concerning the striatal matrix and patches: mediation of S-R memory and reward. *Life Sciences*, 45 (21), 1943-1957.
- White N.M., Nessler C. & Carr G.D. (1987). Operationalizing and measuring the organizing influence of drugs on behavior. En: Bozarth (Ed.). *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drug*. New York: Springer-Verlag. pp. 591-618.
- Wicke K. & Garcia-Ladona J. (2001). The dopamine D3 receptor partial agonist, BP 897, is an antagonist at human dopamine D3 receptors and at rat somatodendritic dopamine D3 receptors. *European Journal of Pharmacology*, 424 (2), 85-90.
- Wilkinson L.S., Humby T., Killcross A.S., Torres E.M., Everitt B.J. & Robbins T.W. (1998). Dissociations in dopamine release in medial prefrontal cortex and ventral striatum during the acquisition and extinction of classical aversive conditioning in the rat. *European Journal of Neuroscience*, 10, 1019-1026.
- Wilson J.D., Nicklous D.M., Aloyo V.J. & Simansky K.J. (2003). An orexigenic role for mu-opioid receptors in the lateral parabrachial nucleus. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 285 (5), R1055-R1065.
- Wilson J.M., Noregá J.N., Corrigall W.A., Coen K.M., Shannak K., Kish S.J. (1994). Amygdala dopamine levels are markedly elevated after self- but not passive-administration of cocaine. *Brain Research*, 668, 39-45.
- Winger G. & Woods J.H. (2001). The effects of chronic morphine on behaviour reinforced by several opioids or by cocaine in rhesus monkeys. *Drug and Alcohol Dependence*, 62, 181-189.
- Wise R.A. & Rompré P.P. (1989). Brain dopamine and reward. *Annual Review of Psychology*, 40, 191-225.
- Wise R.A. (1974). Lateral hypothalamic electrical stimulation: does it make animals 'hungry'? *Brain Research*, 67 (2), 187-209.
- Wise R.A. (1982). Neuroleptic and operant behavior: The anhedonia hypothesis. *The Behavioral and Brain Sciences*, 5, 39-87
- Wise R.A. (1996). Addictive drugs and brain stimulation reward. *Annual Review of Neuroscience*, 19, 319-340.
- Wise R.A. (1998). Drug-activation of brain reward pathways. *Drug and Alcohol Dependence*, 51 (1-2), 13-22.
- Wise R.A. (2000). Interactions between medial prefrontal cortex and meso-limbic components of brain reward circuitry. *Progress in Brain Research*, 126, 255-262.
- Wise R.A. (2002). Brain reward circuitry: insights from unsensed incentives. *Neuron*, 36 (2), 229-240.
- Wise R.A. (2004). Dopamine, learning and motivation. *Nature Reviews. Neuroscience*, 5, 483-494.
- Wise R.A. (2005). Forebrain substrates of reward and motivation. *The Journal of Comparative Neurology*, 493 (1), 115-121.

- Wise R.A. (2006). Role of brain dopamine in food reward and reinforcement. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 361, 1149–1158.
- Wise R.A., Spindler J. & Legault L. (1978). Major attenuation of food reward with performance-sparing doses of pimozide in the rat. *Canadian Journal of Psychology*, 32, 77–85.
- Wolinsky T.D., Carr K.D., Hiller J.M. & Simon E.J. (1994). Effects of chronic food restriction on mu and kappa opioid binding in rat forebrain: a quantitative autoradiographic study. *Brain Research*, 656 (2), 274-280.
- Wolinsky T.D., Carr K.D., Hiller J.M. & Simon E.J. (1996). Chronic food restriction alters μ ν κ receptor binding in the parabrachial nucleus of the rat: a quantitative autoradiographic study. *Brain Research*, 706, 333-336.
- Wood M.D., Boyfield I., Nash D.J., Jewitt F.R., Avenell K.Y. & Riley G.J. (2000). Evidence for antagonist activity of the dopamine D3 receptor partial agonist, BP 897, at human dopamine D3 receptor. *European Journal of Pharmacology*, 407 (1-2), 47-51.
- Wright C.I. & Groenewegen (1996). Patterns of overlap and segregation between insular cortical, intermediodorsal thalamic and basal amygdaliod afferentes in the nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience*, 73 (2), 359-373.
- Wu Q., Boyle M.P. & Palmiter R.D. (2009). Loss of GABAergic signaling by AgRP neurons to the parabrachial nucleus leads to starvation. *Cell*, 137 (7), 1225-1234.
- Wyrwicka W. & Dobrzecka C. (1960). Relationship between feeding and satiation centers of the hypothalamus. *Science*, 132, 805-806.
- Xiao C. & Ye J.H. (2008). Ethanol dually modulates GABAergic synaptic transmission onto dopaminergic neurons in ventral tegmental area: role of mu-opioid receptors. *Neuroscience*, 153 (1), 240-248.
- Xu N., Wang L., Wu C. & Pei G. (2001). Spatial learning and morphine-rewarded place preference negatively correlates in mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 68 (3), 389-394.
- Yadav R., Suri M., Mathur R. & Jain S. (2009). Effect of procainization of ventromedial nucleus of hypothalamus on the feeding behavior of rats. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 44 (3), 247-252.
- Yamamoto T. & Sawa K. (2000a). C-Fos-like immunoreactivity in the brainstem following gastric loads of various chemical solutions in rats. *Brain Research*, 866, 135-143.
- Yamamoto T. & Sawa K. (2000b). Comparison of c-fos-like immunoreactivity in the brainstem following intraoral and intragastric infusions of chemical solutions in rats. *Brain Research*, 866, 144-155.
- Yamamoto T. (2006). Neural substrates for processing of cognitive and affective aspects of taste in the brain. *Archives of Histology and Cytology*, 69 (4), 243-255.
- Yamamoto T. (2007). Brain regions responsible for the expression of conditioned taste aversion in rats. *Chemical Senses*, 32 (1), 105-109.
- Yamamoto T., Azuma S. & Kawamura Y. (1984). Functional relations between the cortical gustatory area and the amygdala: electrophysiological and behavioral studies in rats. *Experimental Brain Research*, 56 (1), 23-31.
- Yamamoto T., Matsuo R., Kiyomitsu Y. & Kitamura R. (1989). Taste responses of cortical neurons in freely ingesting rats. *Journal of Neurophysiology*, 61 (6), 1244-1258.

- Yamamoto T., Shimura T., Sakai N. & Ozaki N. (1994a). Representation of hedonics and quality of taste stimuli in the parabrachial nucleus of the rat. *Physiology & Behavior*, 56 (6), 1197-1202.
- Yamamoto T., Shimura T., Sako N., Azuma S., Bai W.Z. & Wakisaka S. (1992). C-fos expression in the rat brain after intraperitoneal injection of lithium chloride. *NeuroReport*, 3 (12), 1049-1052.
- Yamamoto T., Shimura T., Sako N., Yasoshima Y. & Sakai N. (1994b). Neural substrates for conditioned taste aversion in the rat. *Behavioral Brain Research*, 65, 123-137.
- Yamamoto T., Takemura M., Inui T., Torii K., Maeda N., Ohmoto M., Matsumoto I. & Abe K. (2009). Functional organization of the rodent parabrachial nucleus. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1170, 378-382.
- Yasui Y., Saper C.B. & Cechetto D.F. (1989). Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the visceral sensory cortex, thalamus, and related pathways in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 290 (4), 487-501.
- Yefet K., Merhav M., Kuulmann-Vander S., Elkobi A., Belevsky K., Jacobson-Pick S., Meiri N. & Rosenblum K. (2006). Different signal transduction cascades are activated simultaneously in the rat insular cortex and hippocampus following novel taste learning. *The European Journal of Neuroscience*, 24 (5), 1434-1442.
- Yeomans J. & Baptista M. (1997). Both nicotinic and muscarinic receptors in ventral tegmental area contribute to brain-stimulation reward. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 57 (4), 915-921.
- Yeomans J.S. (1990). "Temporal summation decay" in hypothalamic self-stimulation: threshold changes at long intrapair intervals due to axonal subnormal periods. *Behavioral Neuroscience*, 104 (6), 991-999.
- Yeomans J.S., Mathur A. & Tampakeras M. (1993). Rewarding brain stimulation: role of tegmental cholinergic neurons that activate dopamine neurons. *Behavioral Neuroscience*, 107 (6), 1077-1087.
- Yokota S., Tsumori T., Ono K. & Yasui Y. (2001). Phrenic motoneurons receive monosynaptic inputs from Kölliker-Fuse nucleus: a light- and electron-microscopic study in the rat. *Brain Research*, 888, 330-335.
- Yoshida A., Chen K., Moritani M., Yabuta N.H., Nagase Y., Takemura M. & Shigenaga Y. (1997). Organization of the descending projections from the parabrachial nucleus to the trigeminal sensory nuclear complex and spinal dorsal horn in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 383 (1), 94-111.
- Young A.M.J., Moran P.M. & Joseph M.H. (2005). The role of dopamine in conditioning and latent inhibition: What, when, where and how?. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29, 963-976.
- Yu W.Z., Silva R.M., Sclafani A., Delamater A.R. & Bodnar R.J. (2000). Pharmacology of flavor preference conditioning in sham-feeding rats: effects of dopamine receptor antagonist. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 65 (4), 635-647.
- Yuan C.S. & Barber W.D. (1991). Parabrachial nucleus: neuronal evoked responses to gastric vagal and greater splanchnic nerve stimulation. *Brain Research Bulletin*, 27 (6), 797-803.
- Zafra M.A., Molina F. & Puerto A. (2003). Effects of perivagal administration of capsaicin on post-surgical food intake. *Autonomic Neuroscience: basic & clinical*, 107 (1), 37-44.
- Zafra M.A., Simón M.J., Molina F. & Puerto A. (2002). The role of the external lateral parabrachial subnucleus in flavor preferences induced by predigested food administered intragastrically. *Brain Research*, 950, 155-164.

- Zald D.H., Lee J.T., Fluegel K.W. & Pardo J.V. (1998). Aversive gustatory stimulation activates limbic circuits in humans. *Brain*, 121, 1143-1154.
- Zapata A., Chefer V.I., Ator R., Shippenberg T.S. & Rocha B.A. (2003). Behavioral sensitization and enhanced dopamine response in the nucleus accumbens after intravenous cocaine self-administration in mice. *European Journal of Neuroscience*, 17, 590-596.
- Zarevics P. & Setler P.E. (1979). Simultaneous rate-independent and rate-dependent assessment of intracranial self-stimulation: evidence for the direct involvement of dopamine in brain reinforcement mechanisms. *Brain Research*, 169 (3), 499-512.
- Zarevics P. & Setler P.E. (1981). Effects of GABAergic drugs on brain stimulation reward as assessed by a 'threshold' method. *Brain Research*, 215 (1-2), 201-209.
- Zarrindast M.R., Faraji N., Rostami P., Sahraei H. & Ghoshouni H. (2003). Cross-tolerance between morphine- and nicotine-induced conditioned place preference in mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 74 (2), 363-369.
- Zatorre R.J., Jones-Gotman M., Evans A.C. & Meyer E. (1992). Functional localization and lateralization of human olfactory cortex. *Nature*, 360 (6402), 339-340.
- Zhang C., Kang Y. & Lundy R.F. (2011). Terminal field specificity of forebrain efferent axons to the pontine parabrachial nucleus and medullary reticular formation. *Brain Research*, 1368, 108-118.
- Zhang D., Zhang H., Jin G.Z., Zhang K. & Zhen X. (2008). Single dose of morphine produced a prolonged effect on dopamine neuron activities. *Molecular Pain*, 4, 57-63.
- Zhang D., Zhou X., Wang X., Xiang X., Chen H. & Hao W. (2007). Morphine withdrawal decreases responding reinforced by sucrose self-administration in progressive ratio. *Addiction biology*, 12 (2), 152-7.
- Zhang S.P., Bandler R. & Carrive P. (1990). Flight and immobility evoked by excitatory amino acid microinjection within distinct parts of the subtentorial midbrain periaqueductal gray of the cat. *Brain Research*, 520 (1-2), 73-82.
- Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L. & Friedman J.M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372, 425-432.
- Zhang Z. & Oppenheimer S.M. (1997). Characterization, distribution and lateralization of baroreceptor-related neurons in the rat insular cortex. *Brain Research*, 760, 243-250.
- Zhang Z.H. & Oppenheimer S.M. (2000). Baroreceptive and somatosensory convergent thalamic neurons project to the posterior insular cortex in the rat. *Brain Research*, 861, 241-256.
- Zhang Z.H., Dougherty P.M. & Oppenheimer S.M. (1999). Monkey insular cortex neurons respond to baroreceptive and somatosensory convergent inputs. *Neuroscience*, 94 (2), 351-360.
- Zhao Z., Gao Y., Sun Y., Zhao C., Gereau R.W. & Chen Z. (2007). Central serotonergic neurons are differentially required for opioid analgesia but not for morphine tolerance or morphine reward. *PNAS*, 104 (36), 14519-14524.
- Zhu X., Wang X., Parkinson C., Cai C., Gao S. & Hu P. (2010). Brain activation evoked by erotic films varies with different menstrual phases: an fMRI study. *Behavioural Brain Research*, 206 (2), 279-285.

- Zito K.A., Bechara A., Greenwood C. & Van der Kooy D. (1988). The dopamine innervation of the visceral cortex mediates the aversive effects of opiates. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 30, 693-699.
- Zubieta J.K., Gorelick D.A., Stauffer R., Ravert H.T., Dannals R.F. & Frost J.J. (1996). Increased mu opioid receptor binding detected by PET in cocaine-dependent men is associated with cocaine craving. *Nature Medicine*, 2 (11), 1225-1229.