



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

"Participación de los rCB2 de la CCA en la toma de decisión en un modelo de impulsividad por consumo de EtOH en ratas"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA
P R E S E N T A (N)

Alejandro Martínez López

Director: Dr. **Felipe Cortés Salazar**

Dictaminadores: Dr. **Rodrigo Erick Escartín Pérez**

Dra. **Verónica Elsa López Alonso**



Los Reyes Iztacala, Edo de México, 11/2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Resumen

El consumo compulsivo de etanol (EtOH) y la ingesta de alimentos ricos en azúcares comparten circuitos neuronales involucrados en las conductas que se expresan en ambos procesos. Recientemente se ha propuesto la relación entre la conducta tipo atracción (CTA) de EtOH y la expresión de conductas impulsivas en modelos animales, de modo que se alteran funciones ejecutivas como la toma de decisiones. Aunado a esto, los receptores CB2 (rCB2) de la corteza del cíngulo anterior (CCA) participan en la regulación de estas funciones. Por ello, el objetivo de esta tesis fue determinar la participación de los rCB2 de la CCA en ratas expuestas a un modelo de CTA de EtOH en la toma de decisiones en tareas con costo de esfuerzo y demora. Nuestros hallazgos muestran que la exposición a temprana edad al consumo intermitente de una solución con EtOH y sacarosa desarrolla impulsividad en la adultez de los animales, y que, con el bloqueo farmacológico de los rCB2 de la CCA, incrementa la motivación para obtener el reforzador en la tarea con costo de esfuerzo, sin modificar la elección una vez establecida. Se concluye que los rCB2 de la CCA regulan la motivación, pero no la expresión de impulsividad en la toma de decisión en una tarea con costo de esfuerzo.

Palabras clave: conducta tipo atracción, etanol, corteza cingulada anterior, impulsividad, motivación, receptores CB2, sistema endocannabinoide, toma de decisiones.

Abstract

Compulsive consumption of ethanol and ingestion of foods rich in sugar share neuronal circuits involved in behaviors that are expressed in both processes. Recently, a relationship has been proposed between ethanol binge-like behavior and the expression of impulsive behaviors in animal models, such that executive functions such as decision making are altered. In addition, CB2 receptors in the anterior cingulate cortex participate in the regulation of these functions. Therefore, the objective of this thesis was to determine the participation of CB2 receptors in the anterior cingulate cortex in rats exposed to an ethanol binge-type behavioral model in decision-making in tasks with a cost of effort and delay. Our findings show that exposure at an early age to intermittent consumption of a solution with ethanol and sucrose develops impulsivity in the animals' adulthood, and that, with pharmacological blockade of the CB2 receptors of the anterior cingulate cortex, it increases the motivation to obtain the reinforcer in the task with effort cost, without modifying the choice once established. It was concluded that CB2 receptors in the anterior cingulate cortex regulate motivation but not the expression of impulsivity in decision making in a task requiring effort.

Keywords: binge drinking, ethanol, anterior cingulate cortex, impulsivity, motivation, CB2 receptors, endocannabinoid system, decision making.

Agradecimientos

Quiero agradecer a mi familia, por guiarme pacientemente a los caminos correctos. A mis padres, Laura y Alejandro, por su esfuerzo y dedicación continua e inquebrantable para hacerme lo que hoy soy. A mi hermana Arely, por su nobleza que me ha brindado apoyo incondicional.

Agradezco al director de la presente tesis Felipe Cortés, por sus enseñanzas, cuidado y paciencia para mostrarme lo maravilloso de la ciencia y de una amistad sincera.

Agradezco al Dr. Erick Escartín por su confianza al aceptarme en el laboratorio y su apoyo continuo durante el desarrollo de los experimentos y la escritura de la presente tesis.

A mis compañeros y amigos del laboratorio, gracias por su apoyo y momentos de felicidad que hemos compartido, me han motivado a continuar en mi formación académica y personal.

“Un hombre desapegado, sabiendo que no tiene posibilidad de poner vallas a su muerte, sólo tiene una cosa que lo respalde: el poder de sus decisiones (...). Y así, con la conciencia de su muerte, con desapego y con el poder de sus decisiones, un guerrero arma su vida en forma estratégica”.

Carlos Castaneda,

Una realidad aparte

Lista de Abreviaturas

2-araquidonoilglicerol.....	(2-AG)
AM630	(AM)
Amígdala basolateral	(Abl)
Anandamida	(AEA)
Área tegmental ventral.....	(VTA)
Cannabidiol.....	(CBD)
Corteza del cíngulo anterior.....	(CCA)
Células receptoras al sabor.....	(CRS)
Concentraciones de etanol en sangre	(CES)
Condicionamiento por preferencia al lugar.....	(CPL)
Conducta de atracción.....	(CA)
Conducta tipo Atracón	(CTA)
Corteza del cíngulo anterior.....	(CCA)
Corteza infralímbica.....	(IL)
Corteza orbitofrontal.....	(COF)
Corteza orbitofrontal medial.....	(COFm)
Corteza prefrontal	(CPF)
Corteza prefrontal medial	(CPFm)
Corteza prefrontal ventromedial	(CPFvm)
Corteza prelímbica	(PrL)
Días postnatales	(DPN)
Dopamina.....	(DA)

Drinking in the Dark	(DID)
Endocannabinoides	(eCBs)
GW405833	(GW)
Hipotálamo lateral.....	(HL)
Neuronas espinosas medianas.....	(MSN)
Núcleo accumbens	(NAc)
Núcleo parabraquial	(NPB)
Prelímbica	(PrL)
Razón Fija 1	(RF1)
Razón Fija 5	(RF5)
Receptor a cannabinoides tipo 1	(rCB1)
Receptor a cannabinoides tipo 2	(rCB2)
Receptores a dopamina del tipo D1	(rD1)
Receptores a dopamina del tipo D2	(rD2)
Receptores a glicina (rGli).....	(rGli)
Receptores acoplados a proteínas G	(GPCRs)
Receptores ionotrópicos de glutamato N-metil-D-aspartato.....	(NMDA)
Resonancia magnética funcional.....	(RMf)
Sistema endocannabinoide.....	(SEC)
SR141716.....	(SR)
Trastornos de la conducta alimentaria y de la ingestión de alimentos.....	(TCAIA)
Trastorno por atracón	(TPA)
WIN 55,212.....	(WIN)

Índice

1. Introducción.....	11
1.1 Neurobiología de la Ingesta de Soluciones de Sacarosa y EtOH.....	13
1.2 Neurobiología de las Alteraciones Conductuales de la Ingesta de Soluciones de Sacarosa y EtOH	16
<i>1.2.1 Conducta Tipo Atracón de Soluciones de Sacarosa</i>	<i>20</i>
<i>1.2.2 Conducta Tipo Atracón de Soluciones de EtOH.....</i>	<i>22</i>
<i>1.2.3 Análisis Experimental de la Conducta Tipo Atracón.....</i>	<i>24</i>
1.3 Neurobiología de la Toma de Decisiones.....	27
<i>1.3.1 Modulación de la Corteza del Cíngulo Anterior y la Toma de Decisiones</i>	<i>29</i>
<i>1.3.2 Análisis Experimental de la Conducta de Toma de Decisiones</i>	<i>32</i>
1.4 Neurobiología del Sistema Endocannabinoide en la Ingesta de Soluciones de Sacarosa y EtOH	34
<i>1.4.1 Participación de los rCB2 en la Conducta Tipo Atracón de EtOH y la Toma de Decisiones.....</i>	<i>37</i>
1.5 Justificación.....	39
1.6 Planteamiento del problema.....	41
1.7 Objetivo General	43
<i>1.7.1 Objetivos Particulares</i>	<i>43</i>
1.8 Hipótesis.....	43

2. Método	45
2.1. Diseño de Investigación	45
2.2. Sujetos	45
2.3. Escenario	46
2.4. Dietas.....	46
2.5. Fármacos	47
2.6. Aparatos	48
2.7. Cirugía Estereotáxica	48
2.8. Procedimiento y Protocolo Experimental	49
2.8.1. <i>Modelo de Conducta Tipo Atracón de EtOH</i>	52
2.8.2. <i>Modelo de Impulsividad Determinada con una Operante en la Toma de Decisión</i>	53
2.8.3. <i>Participación de los rCB2 en la CCA en la Toma de Decisión en una Tarea con</i> <i>Costo de Esfuerzo y Demora</i>	54
2.8.4. <i>Análisis Histológico</i>	55
2.8.5. <i>Análisis Estadístico</i>	55
3. Resultados	57
3.1. Efectos del Acceso Intermitente al EtOH sobre el Peso Corporal y la Ingesta Calórica	57
3.2. Entrenamiento y Mantenimiento de la Operante en el modelo de CTA de EtOH.....	61
3.3. Efectos del Acceso Intermitente de EtOH sobre la Toma de Decisiones con Costo de Demora	63

3.4. Participación de los rCB2 de la CCA en la Toma de Decisiones con Costo de Demora	75
3.5. Efectos del Acceso Intermitente al EtOH sobre la Toma de Decisiones con Costo de Esfuerzo.....	79
3.6. Participación de los rCB2 de la CCA en la Toma de Decisiones con Costo de Esfuerzo ..	86
4. Discusión.....	95
5. Limitaciones y perspectivas	102
6. Conclusiones.....	103
7. Referencias	104

1. Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que el 5.1% de la carga mundial de morbilidad y lesiones se le atribuye al consumo nocivo de EtOH, asimismo se considera factor causal en más de 200 enfermedades y trastornos, relacionándose con la presencia de diversos trastornos mentales y del comportamiento (OMS, 2023).

Los trastornos de la conducta alimentaria y de la ingestión de alimentos (TCAIA) son parte de los trastornos mentales, de acuerdo con cifras de la OMS, 14 millones de personas padecían trastornos alimentarios en 2019, de los cuales casi 3 millones pertenecían a población infantil y adolescente (OMS, 2023); además, se reporta que la prevalencia a nivel mundial ha incrementado 25% y solo el 20% está bajo tratamiento (Treasure et al., 2020)

La dependencia a EtOH y los TCAIA comparten circuitos cerebrales involucrados en el procesamiento reforzante, en este sentido, también comparten alteraciones asociadas a la dependencia.

El Trastorno por Atracón (TPA) es uno de los principales TCAIA con mayor prevalencia, afectando entre el 2 y 5% de la población adulta (Novelle & Diéguez, 2018), además presenta una comorbilidad alta con la obesidad (Morales et al., 2015). En el TPA destaca el sentimiento de culpa asociado al atracón (APA, 2022), por lo que se distingue un elemento emocional en el trastorno, lo que aumenta la probabilidad de desarrollar conductas desadaptativas como el abuso de sustancias, principalmente la ingesta de EtOH (Mustelin et al., 2016; Romer et al., 2018). Se ha reportado que en personas con ingesta recurrente de EtOH aumenta hasta en un 65% el riesgo de desarrollar TPA (Udo & Grilo, 2018).

En México, el uso de EtOH se considera como el principal problema de consumo afectando mayormente a población adolescente. El consumo excesivo de EtOH se reportó en 19.8% (16.8 millones) de la población, de los cuales el 2.2% (1.8 millones) de mexicanos presentaron posible dependencia (Secretaría de Salud et al., 2016).

En experimentación animal se han desarrollado modelos de Conducta Tipo Atracón (CTA) de alimentos y/o EtOH, para estudiar el origen, expresión y relación de esta conducta con otras que son igualmente desadaptativas. La CTA y el abuso de sustancias comparten al menos la tendencia por actuar de forma impulsiva en la toma de decisiones (Mustelin et al., 2016). En este sentido, se sabe que el sistema endocannabinoide (SEC) desempeña una función importante en la regulación de la conducta impulsiva y la toma de decisiones, al menos en lo que corresponde a su participación en la corteza del cíngulo anterior (CCA), área responsable de la toma de decisiones (Fatahi & Haghparast, 2018).

Si bien la investigación del SEC se ha enfocado en gran parte al estudio del receptor a cannabinoides tipo 1 (rCB1), actualmente se sabe que hay estructuras del sistema nervioso central en las que se expresan los receptores a cannabinoides tipo 2 (rCB2), como la CCA (Corcoran et al., 2020). En ese sentido, resulta relevante diseñar modelos enfocados a evaluar la participación del rCB2 en regiones corticales relacionadas con funciones ejecutivas que involucran la toma de decisiones, como la CCA, además de evaluar los cambios debidos al acceso intermitente y expresión de la CTA en modelos animales, alteraciones que podrían estar implicadas en el desarrollo de conductas impulsivas en el abuso de sustancias y consecuente dependencia.

1.1 Neurobiología de la Ingesta de Soluciones de Sacarosa y EtOH

En la actualidad se ha aceptado la noción de que dos sistemas generales de procesamiento neuronal regulan la ingesta de alimentos, estos son los componentes homeostático y hedónico. Así, la alimentación homeostática está regulada por señales periféricas y centrales relacionadas con el estado de las reservas energéticas; mientras que la alimentación hedónica se refiere a la ingesta de alimento por sus propiedades palatables sin un requerimiento energético o nutricional específico (Hao et al., 2020), cabe mencionar que este último está influenciado por elementos del ambiente, factores genéticos, homeostáticos y de señalización celular (Galaj & Ranaldi, 2021).

En la regulación neuronal de la alimentación hedónica se procesan los componentes gratificantes, esta vía implica la información gustativa regulada por el núcleo parabraquial (NPB) que se comunica con el hipotálamo lateral (HL), porción del hipotálamo que tiene proyecciones hacia el núcleo accumbens (NAc), vía por la cual se activan neuronas del área tegmental ventral (VTA), lo que permite integrar información relacionada con el requerimiento energético y la palatabilidad del alimento (Rossi & Stuber, 2018).

Los factores orosensoriales como el sabor, textura y olor configuran la palatabilidad que se le atribuye a los alimentos, además de la composición de los macronutrientes. Se ha observado que los alimentos ricos en grasas y azúcares son más palatables. La detección del sabor se lleva a cabo a través de la activación de los receptores expresados en células sensitivas ubicadas en toda la cavidad bucal que integra información mecánica, térmica y química como la que sensan las papilas gustativas en la lengua (Gutierrez et al., 2020).

Hasta el momento están caracterizados cuatro tipos diferentes de células receptoras al sabor (CRS) asociadas a los sabores descritos en el humano: dulce, salado, amargo, agrio y

umami. Las CRS tipo II expresan receptores T1R2/T1R3 acoplados a proteínas G (GPCRs) que integran la sensación del sabor dulce (Yarmolinsky et al., 2009).

Cuando se estimulan las papilas gustativas liberan neurotransmisores que activan los nervios craneales: facial, glossofaríngeo y vago, que a su vez envían información relacionada con el sabor e intensidad a núcleos del encéfalo (Ohkuri et al., 2012), como el NPB, este a su vez al núcleo ventroposteromedial del tálamo, corteza insular anterior y posterior, para comunicarse con la corteza del NAc, núcleo que forma parte del circuito de la recompensa, y este al HL (Gutierrez et al., 2020).

El circuito de la recompensa está constituido por neuronas que se originan en el ATV y liberan dopamina (DA) en el NAc. La actividad DAérgica en este circuito está relacionada con la mediación de estímulos gratificantes, incluidos los efectos positivos y motivacionales de los alimentos palatables (Zhang, 2020). Se ha encontrado una relación directa entre la ingesta de soluciones palatables con el aumento de Ca^{2+} intracelular en las neuronas del ATV, lo que incrementa la tasa de disparo, y a su vez promueve la liberación de DA en el Nac y la corteza prefrontal (CPF) (Saunders et al., 2018).

En resumen, la estimulación de los GPCRs con sacarosa conlleva la identificación de tres atributos principales: la calidad del sabor, intensidad y palatabilidad; la integración de esta información desencadena la activación de vías límbicas relacionadas con el procesamiento de las propiedades hedónicas y motivacionales del alimento (Gutierrez et al., 2020).

Por otro lado, debido a que la ingesta de alcohol (EtOH) aporta calorías al organismo y generalmente se acompaña en bebidas azucaradas y ricas en carbohidratos complejos, se le considera un alimento (Yeomans, 2010). Adicionalmente, debido a sus efectos sedantes,

ansiolíticos y anticonvulsivos, también es considerado como anestésico, y finalmente, por su capacidad de activar neuronas que liberan DA del ATV al NAc (Tabakoff & Hoffman, 2013), promover su consumo compulsivo y estados afectivos negativos durante su abstinencia, se le considera como sustancia adictiva (Galaj & Ranaldi, 2021).

Respecto a sus propiedades ansiolíticas, se han relacionado con la activación del receptor GABA-A, donde actúa como agonista, mimetizándose con la actividad endógena de GABA y como antagonista de los receptores ionotrópicos de glutamato, los N-metil-D-aspartato (NMDA), reduciendo la actividad de glutamato.

Como ya se ha mencionado, el EtOH tiene propiedades adictivas. Actualmente se han propuesto tres mecanismos por los cuales el EtOH promueve el incremento de DA en el NAc, el primero es mediante la hiperpolarización de las interneuronas GABAérgicas del ATV, desinhibiendo las neuronas DAérgicas que proyectan al NAc. El segundo consiste en la hiperpolarización de las neuronas espinosas medianas (MSN) del NAc que proyectan al ATV, generando una disminución en el tono de GABA en los somas de las neuronas del ATV. Por último, el efecto desinhibidor del EtOH sobre las neuronas DAérgicas del hipotálamo que proyectan al ATV por la activación de receptores μ opioides (Lees & Lingford-Hughes, 2012).

En el NAc el EtOH activa dos vías DAérgicas, por un lado, se encuentran las neuronas que expresan a los receptores del tipo D1 (rD1), vía asociada a la recompensa, y por otro lado las neuronas que expresan a los receptores del tipo D2 (rD2), vía asociada con la aversión (Gallegos et al., 2019).

En la actualidad el receptor GABA-A es el principal blanco molecular que se asocia a la ingesta de EtOH. Este receptor es una proteína oligomérica formada a partir de diferentes

combinaciones particulares de subunidades α (1-6), β (1-3), γ (1-3), δ , ϵ y θ (Tabakoff & Hoffman, 2013) con un canal transmembranal permeable a los iones Cl^- , que al activarlo permite el flujo del ion al interior de la neurona, lo que promueve su hiperpolarización. El EtOH tiene un efecto potenciador sobre la liberación de GABA lo que modula negativamente la actividad de las neuronas que expresan a sus receptores incluidas las neuronas del circuito de la recompensa (Guerri, 2000).

1.2 Neurobiología de las Alteraciones Conductuales de la Ingesta de Soluciones de Sacarosa y EtOH

Se sabe que la ingesta de alimentos palatables ricos en sacarosa estimulan el circuito de la recompensa, estos hallazgos permiten proponer una relación entre los efectos de la ingesta de alimentos palatables y el uso de drogas de abuso, ya que comparten sustratos neurobiológicos que los regulan (Volkow et al., 2017).

Una parte de la comunidad científica considera que los alimentos altamente palatables tienen el potencial de ser adictivos, se argumenta que la topología conductual del consumo puede incluir abuso, compulsión, impulsividad y alta frecuencia de episodios de ingesta que se suelen clasificarse como socialmente disfuncional (Imperator et al. 2016). En este sentido, la impulsividad puede definirse como actuar o tomar decisiones sin prevención adecuada y por lo tanto aumentando el riesgo de tener consecuencias negativas, lo que se relaciona estrechamente con el desarrollo de la adicción a cualquier sustancia (Wistanley, 2011), aunque en modelos animales parece más acertado definirla como aquella conducta que desvía a los sujetos del máximo reforzamiento disponible (Sosa & Dos Santos, 2018).

La adicción se puede definir como una alteración dinámica en los circuitos motivacionales del cerebro causados por la saliencia excesiva de incentivos y la formación de

hábitos y déficits en la función de recompensa, que en consecuencia comprometen el funcionamiento ejecutivo. De acuerdo con este modelo, la adicción se puede explicar a partir de tres etapas principales que involucran diferentes manifestaciones conductuales relacionadas a alteraciones de circuitos neuronales específicos: 1) intoxicación o atracón, 2) abstinencia y efectos negativos, y 3) preocupación y anticipación (Koob & Volkow, 2016).

El consumo excesivo de azúcar es considerado como uno de los principales componentes en los alimentos que contribuye a la ganancia de peso corporal, además de que la dieta alta en sacarosa se ha relacionado con el deterioro cognitivo, efectos negativos en la neuroplasticidad y alteraciones afectivas como ansiedad y depresión (Kim et al., 2018). Esta dieta también incrementa el riesgo de cáncer, estrés oxidativo, inflamación y obesidad (Makarem et al., 2018). La obesidad puede promover la pérdida de control durante la ingesta de alimentos palatables y en consecuencia afectar la toma de decisiones (Beilharz et al., 2014).

Los alimentos con alto contenido de sacarosa poseen propiedades recompensantes, cuando su consumo es crónico y además excesivo puede generar alteraciones en el circuito mesocorticolímbico y con ello promover la sobreingesta (Kenny, 2011).

Se ha reportado que ante la exposición a una solución de sacarosa al 10%, en el NAc se presentan alteraciones en la comunicación sináptica a través de la expresión del receptor a glutamato AMPA que participa en la modulación de las conductas compulsivas características en la búsqueda de drogas de abuso (Peng et al., 2011).

La ingesta prolongada de sacarosa en ratas se asocia con cambios estructurales en la morfología dendrítica de la amígdala, además esta estructura participa en la dependencia a sustancias facilitando el paso de una conducta impulsiva a otra compulsiva (Koob et al., 2009).

Uno de los componentes que comparte la retirada del azúcar en la dieta y la abstinencia en el consumo de drogas de abuso, es el *craving*, que se caracteriza por el deseo descontrolado por conseguir el estímulo reforzante (Freeman et al., 2018). La sensación de *craving* se ha asociado con la participación de la corteza orbitofrontal (COF) y la corteza del cíngulo anterior (CCA). Las neuronas de la COF participan de manera similar en las conductas de búsqueda de drogas de abuso y soluciones de sacarosa (Moorman & Aston-Jones, 2014).

En modelos animales y estudios clínicos con humanos se ha reportado un decremento en la expresión de los rD2 en el estriado, asociados a la ingesta crónica de alimentos palatables y en la dependencia a drogas recreativas. En consistencia con lo anterior, se ha reportado que posterior a la ingesta de una bebida azucarada se reduce la concentración de DA en el cuerpo estriado en adultos obesos, en comparación con adultos delgados (Wang et al., 2014).

Ya que los rD2 tienen la función de mediar la inhibición del hambre, la disminución en la expresión de este receptor podría estar implicada en la sobreingesta de alimentos palatables (Freeman et al., 2018), sin embargo hay controversia en la participación de este receptor, puesto que se ha demostrado que el bloqueo farmacológico de los rD2 de la porción *Shell* del NAc previene el incremento en la ingesta de sacarosa, así como los cambios en la frecuencia y duración de los episodios de atracón, inducidos por el acceso intermitente a la solución de sacarosa (Suárez-Ortiz et al., 2018).

De manera análoga, empleando un modelo animal, Santos et al. (2018) demostraron la relación entre el consumo de una dieta alta en sacarosa y la susceptibilidad para producir conductas relacionadas a la ansiedad y depresión en ratones de la cepa BALB/c, sin encontrar cambios en la actividad locomotora.

A pesar de que la mayor parte de evidencia hasta el momento implica soluciones con alto contenido de sacarosa, también se ha reportado que una concentración relativamente baja al 3.4% es suficiente para incrementar la sensibilidad a efectos positivos generados por la sacarosa en ratas adolescentes que fueron expuestas previamente a una solución inicial al 10% de sacarosa (Wilmouth & Spear, 2009).

La exposición prolongada al EtOH también genera alteraciones en diversos circuitos neuronales, por ejemplo, las que comprometen a los ganglios basales y vías glutamatérgicas del circuito corticoestriatal que se relacionan con conductas de búsqueda y decremento en la función de recompensa, por consiguiente, se presentan sensaciones negativas asociadas a la abstinencia y mayor vulnerabilidad a la recaída (Koob & Volkow, 2016).

Durante el periodo de retirada o abstinencia al EtOH se consolidan las sensaciones de estrés, ansiedad, anhedonia y consecuentemente depresión, donde se ha reportado la participación de norepinefrina, dinorfina y la señalización mediada por el factor liberador de corticotropina en la amígdala, además de presentarse un cambio en la valoración de reforzadores naturales, lo que promueve una pérdida de motivación en su consumo (Koob & Volkow, 2016).

Con el objetivo de eliminar el estado emocional negativo se promueven conductas patológicas dirigidas a la búsqueda de EtOH. Se presenta una pérdida del control inhibitorio y alteración en la sensibilidad de señales asociadas al consumo, explicadas por el desbalance en la comunicación de regiones de la CPF como la porción dorsolateral, la CCA y la COF medial. Un mecanismo crítico en la pérdida del control inhibitorio son las alteraciones en la comunicación de neuronas GABAérgicas que expresan el factor liberador de corticotropina de la CPF medial (CPFm) que proyectan a la amígdala (Koob & Volkow, 2016).

Otra vía que recientemente explica los cambios conductuales por el consumo de EtOH, es por los receptores a glicina (rGli), que se expresan ampliamente en la médula espinal y el tronco encefálico, áreas involucradas en la coordinación motora, respuestas reflejas, procesamiento sensorial, transmisión del dolor y ritmos respiratorios. También se ha reportado la sensibilidad de los rGli a bajas concentraciones de EtOH, lo que podría explicar otra vía diferente a la inhibición de receptores GABA-A en el NAc, mediada específicamente por neuronas MSN-D1 (Gallegos et al., 2019).

Uno de los blancos moleculares que ha generado mayor interés en las últimas décadas es el Sistema Endocannabinoide (SEC) debido a que sus ligandos endógenos o endocannabinoides (eCBs) se relacionan con la neuromodulación a corto y largo plazo de la plasticidad neuronal. El consumo de drogas de abuso genera alteraciones en este sistema referentes al aumento en la sensación de *craving*, sensibilidad a señales y síntomas de ansiedad y depresión, características clave en las adicciones (Sidhpura & Parsons, 2011).

1.2.1 Conducta Tipo Atracón de Soluciones de Sacarosa

Un atracón se define como la sobreingesta en periodos breves que generalmente ocurren tras un periodo de abstinencia (Avena et al., 2008). Los atracones suelen presentarse con la ingesta de alimentos ricos en grasas o azúcares, en los modelos animales se emplean dietas con estas características para moldear la conducta tipo atracón (CTA), empleando patrones de restricción o acceso intermitente de alimento (Corwin et al., 2011).

La CTA es consecuencia del *craving*, alteración en el control inhibitorio, ansiedad y el consumo compulsivo que se caracteriza por la persistencia de consumir a pesar de los resultados negativos asociados, similar al consumo de drogas de abuso (Davis & Carter, 2009; Hudson et al., 2018).

Uno de los sistemas más estudiados en la regulación de la percepción hedónica en la ingesta de alimentos palatables es el opioide. Se ha encontrado que ante el consumo de este tipo de alimento se liberan opioides endógenos en el cerebro, además de que con la exposición continua y excesiva cambian los patrones de liberación de sus mensajeros (Corwin et al., 2011).

Específicamente, el consumo de sacarosa induce mayor activación de los receptores μ opioides facilitando la sobreingesta, efecto relacionado con la ganancia de peso corporal (Avena et al., 2008). En los modelos animales, se ha observado que la administración de agonistas selectivos a receptores μ opioides se asocia con el incremento en la susceptibilidad de los elementos hedónicos del alimento palatable, mientras que la administración de antagonistas produce efectos contrarios (Ziauddeen et al., 2013).

La participación de los receptores μ opioides en la CTA se fundamenta en reportes clínicos en humanos y en ensayos experimentales. Tal es el caso de Ziauddeen et al. (2013), quienes reportan que en adultos con obesidad hay una disminución en la preferencia de alimento palatable cuando se administra el GSK1521498 antagonista selectivo de los receptores μ opioides.

Una característica de los modelos animales que desarrollan la CTA es que suelen emplear dietas altas en grasas, sin embargo, recientemente se optado por soluciones azucaradas, debido a que son poco exploradas y reproducen bien las variables asociadas de sobreingesta, obesidad y alteraciones emocionales. Smail-Crevier et al. (2018) encontraron que el atracón continuo de soluciones azucaradas genera desensibilización en las propiedades gratificantes de la sacarosa evaluadas con el paradigma de Condicionamiento por Preferencia al Lugar (CPL), lo que permite relacionarlo con la alteración en el procesamiento de la recompensa.

Avena et al. (2008) encontraron que con la exposición intermitente a una solución de sacarosa las ratas expresan conductas similares a las observadas en el consumo de drogas de abuso. Al inicio del experimento los animales incrementaron su ingesta de sacarosa, posterior a un periodo de privación, conforme avanzó el experimento los animales regularon su consumo calórico del alimento sólido para compensar la ingesta de la solución azucarada que iba en aumento, también observaron conductas asociadas a la depresión experimental con la prueba de nado forzado y signos de conducta agresiva con la retirada de la solución azucarada.

Otro sistema que participa en los efectos neuroadaptativos de la CTA de sacarosa es el SEC, pues se sabe que la ingesta excesiva de alimentos ricos en grasas y sacarosa incrementa la expresión del receptor a cannabinoides tipo 1 (rCB1) en la CPF (Macino et al., 2015). Además, de Sa Nogueira et al. (2021) reportan un incremento en la expresión del gen *Cnr1* que codifica para el rCB1, en el NAc de ratas con acceso intermitente a una solución de sacarosa, lo que altera la señalización del SEC en áreas involucradas en el procesamiento de la recompensa, además observaron un decremento en el consumo de sacarosa con el bloqueo farmacológico del rCB1.

1.2.2 Conducta Tipo Atracción de Soluciones de EtOH

La dependencia y abuso de EtOH en humanos es una de las principales causas de muerte prevenibles en adultos jóvenes, además de representar uno de los mayores costos de salud pública (OMS, 2019).

Generalmente la investigación básica se enfoca en modelos que permiten comprender los mecanismos subyacentes al alcoholismo, sin embargo, los mecanismos conductuales previos al consumo problemático como el consumo compulsivo, también llamado conducta de atracción (CA), patrón conductual que sucede previo a la dependencia de EtOH, son aún lagunas de conocimiento (Sprow & Thile, 2012).

La CA de EtOH se da en periodos cortos de ~2h, definidos como el patrón de consumo que produce concentraciones superiores al 0.08% ($\geq 80\text{mg/dl}$) de EtOH en sangre (CES) y generalmente se presenta posterior a periodos de abstinencia (National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism [NIAAA], 2023). Este consumo corresponde a ingerir cinco o más bebidas alcohólicas en hombres adultos y cuatro o más en mujeres adultas, en un periodo de dos horas aproximadamente (NIAAA, 2023).

La CA de EtOH se vincula con otras patologías como la hipertensión, diabetes mellitus tipo 2 y factores de riesgo asociados al consumo, que van en aumento con su uso, como mantener relaciones sexuales sin protección, facilitar el consumo de otras drogas duras, peleas, lesiones, conducir en estado de ebriedad, consecuencias sociales, económicas y legales (Sprow & Thile, 2012).

Si bien la definición de CA de EtOH se centra en CES de adultos, el patrón de consumo excesivo e intermitente se asocia principalmente con poblaciones más jóvenes (Nelson et al., 2009). En este sentido, cuando se aplica esta definición en la población de adolescentes el criterio de consumo parece demasiado alto, principalmente debido a la diferencia en la talla, porque en las encuestas epidemiológicas los reactivos recaban información en términos del número de bebidas que consume un adulto (Chung et al., 2018).

Donovan (2009) realizó un cálculo aritmético para determinar la CES, $\geq 80\text{mg/dl}$, en personas de 9 a 17 años encontrando que dicha concentración se alcanzó con la ingesta de 3 a 5 o más bebidas alcohólicas en hombres y mujeres de esta población.

En la adolescencia y hasta la edad adulta temprana, el cerebro experimenta numerosos cambios en términos de maduración, lo que se describe por cambios en el volumen y espesor de

la materia gris cortical (Jones et al., 2018). La CPF, principal responsable del control ejecutivo madura después en comparación con el desarrollo de estructuras límbicas involucradas en el procesamiento de recompensas y emociones (Jones et al., 2018). Debido a este desarrollo asincrónico, se considera que es un factor de vulnerabilidad que puede facilitar conductas de riesgo durante la adolescencia como la ingesta de alcohol (Crews et al., 2007).

En estudios de neuroimagen se ha observado un decremento en el volumen y espesor de la materia gris cortical en adolescentes con CA de EtOH, además de comprometer el desarrollo de la materia blanca, aunque los resultados no son contundentes (Jones et al., 2018). Por su parte Howell et al. (2013), reportan un incremento en el volumen de la corteza cingulada anterior (CCA) y posterior en sujetos que reportan CA de EtOH de al menos tres años, por lo cual el incremento volumétrico estaría asociado a un consumo excesivo de EtOH a largo plazo.

Funcionalmente, la CA de EtOH durante la adolescencia se asocia con un mayor riesgo en la toma de decisiones impulsivas relacionado al incremento en la activación de la amígdala e ínsula, así como al decremento del control ejecutivo de la COF (Jones et al., 2018). En un estudio donde se emplearon técnicas de neuroimagen durante la toma de decisiones mediante una tarea con juego de apuestas, se encontró que ante bajas y altas probabilidades de perder, los participantes con atracones de EtOH mostraron un incremento en la activación de la corteza parietal superior, COF y CPF dorsolateral, además de mostrar decisiones más impulsivas ante la alta probabilidad de pérdida (Worbe et al., 2014).

1.2.3 Análisis Experimental de la Conducta Tipo Atracón

Los modelos animales actuales tratan de reproducir conductas y condiciones análogas del CTA de EtOH en humanos. Para conseguirlo se han propuesto diversas estrategias metodológicas que se pueden agrupar en modelos de administración forzada y consumo voluntario. En los

primeros se encuentran inyecciones intraperitoneales, inhalación de vapor, administración por sonda y consumo forzado; en los segundos, se encuentran el modelo de acceso a dos botellas, consumo durante la fase oscura (*Drinking in the Dark-DID*), autoadministración en una tarea operante, acceso intermitente crónico, así como variantes de todos estos modelos (Crabbe et al., 2011; Jeanblanc et al., 2019).

Existe controversia con respecto al criterio de CES en modelos animales para desarrollar la CTA de EtOH, debido a que los roedores lo metabolizan tres veces más rápido (300mg/kg/h) que los humanos (Jeanblanc et al., 2019). Debido a la falta de certeza, algunas investigaciones en modelos animales han empleado el mismo criterio que en humanos (80mg/dl) para considerar el establecimiento de la CTA, sin embargo, esto depende del tipo de modelo que se emplee.

Un elemento importante por considerar en el establecimiento de la CTA en roedores es la edad, como se menciona anteriormente, el patrón de ingesta excesivo se presenta mayormente en población joven (Nelson et al., 2009). Para hacer frente a este desafío, se han empleado modelos de CTA con ratas adolescentes de entre 43 a 55 días post natales (DPN) que corresponden a la adolescencia tardía en humanos (de 18 a 25 años) (Spear, 2016).

Otro factor que contribuye a explicar la CTA de EtOH son los periodos de acceso. Williams et al. (2018) reportaron que la exposición de forma intermitente a una solución de EtOH y sacarosa al 5% y 1% respectivamente en un modelo de dos botellas, genera un incremento en el consumo de la solución y menor sensibilidad a señales negativas asociadas al mismo en comparación con los sujetos con acceso continuo.

Un tercer factor que modifica la CTA de EtOH es la concentración de EtOH en la solución. Jeanblanc et al. (2019) consideran que dos de los principales criterios de un modelo

animal para establecer el atracón de EtOH son el consumo voluntario por vía oral y CES iguales o superiores a 80mg/dl, aunque en otros estudios (Hargreaves et al., 2009; Simms et al., 2008) se consideró que CES de 60 hasta 100mg/dl o más, fueron suficientes para lograr el atracón de alcohol en modelos de consumo intermitente.

Diversos estudios han descrito el patrón conductual de CTA y las condiciones o manipulaciones experimentales para inducirlo, en particular el protocolo DID tiene la ventaja de aprovechar la tendencia natural de los roedores para adoptar conductas consumatorias durante la fase oscura (Barkley-Levenson & Crabbe, 2015). En este paradigma los sujetos se mantienen en un ciclo de luz-oscuridad invertido de 12 horas y el acceso a la solución de EtOH se lleva a cabo de forma limitada durante 4 días consecutivos en periodos de dos horas, en los días 1 a 3 y cuatro horas el último día, iniciando el acceso dentro de las primeras dos horas del ciclo oscuro (Thiele & Navarro, 2013).

La exposición intermitente al EtOH permite que los animales consuman mayores cantidades en periodos cortos y consecuentemente alcanzar la CES superior a 100mg/dl (Barkley-Levenson & Crabbe, 2015) empleando concentraciones de EtOH al 10 o 20% en la solución, sin embargo, también se ha reportado que soluciones con concentraciones menores pueden tener efectos similares (Rhodes et al., 2005). Variantes de este paradigma emplean periodos de retirada de EtOH posteriores a los cuatro días de acceso continuo. Boehm et al. (2008) usaron una solución de EtOH al 20% posterior a un periodo de ausencia de tres semanas y reportaron CES superior a 100mg/dl, lo que indica que este factor es relevante en el mantenimiento de la CTA de EtOH.

En conjunto, los factores asociados al procedimiento DID que parecen más relevantes en la expresión de la CTA de EtOH son: el acceso limitado a la solución en periodos de dos a cuatro

horas, iniciar la exposición dentro de las primeras tres horas al iniciar el ciclo de oscuridad y mantener una exposición intermitente que involucre periodos de retirada de EtOH (Thiele & Navarro, 2013).

1.3 Neurobiología de la Toma de Decisiones

La toma de decisiones es un proceso en el que los organismos logran sortear dificultades y permiten su exitosa adaptación dentro de un entorno, lo cual implica la evaluación de costos y beneficios asociados a resultados probables. Esta evaluación se lleva a cabo al considerar la magnitud de la recompensa, el estado emocional del organismo y el esfuerzo requerido para obtener los objetivos esperados (Silveira et al., 2018).

Este proceso cognitivo se lleva a cabo en diversos contextos que involucran desde un movimiento corporal simple hasta una elección compleja entre diversas opciones. Paulus (2005) considera que la toma de decisiones se basa en tres etapas: 1) la evaluación y formación de preferencias a través de las opciones disponibles, 2) la selección y ejecución de la acción para obtener el objetivo y 3) la experiencia o valoración del resultado.

Hay una variedad de circunstancias y niveles de complejidad que involucra la toma de decisiones, de hecho, muchas decisiones implican riesgos ante la experiencia de una consecuencia adversa, tal como la pérdida, demora de una recompensa, o la obtención de un castigo (Groman, 2020); por ello, proponer que este proceso cognitivo se regule a través de un solo circuito neuronal es reduccionista.

Se ha reportado que la toma de decisiones involucra la participación del circuito cortico-límbico-estriatal donde se ubica la CCA, la amígdala basolateral (Abl) y el NAc (Winstanley &

Floresco, 2016; Yao et al., 2023), aunque también se ha documentado la participación de la COF y las cortezas prefrontales (PrL) e infralímbica (IL) de la CPFm (Doya & Shadlen, 2012).

Los mecanismos que involucran la valoración del costo-beneficio en el procesamiento de la recompensa en paradigmas con esfuerzo físico y cognitivo se asocian con la actividad de la CPF ventromedial (CPFvm), por lo que se le ha propuesto como el núcleo central en la toma de decisiones (Yao et al., 2023).

Existen reportes que sugieren la participación de la Abl en la evaluación de la magnitud de la recompensa y su inactivación farmacológica promueve el decremento en la elección de la recompensa superior asociada a mayor esfuerzo físico y cognitivo (Winstanley & Floresco, 2016) y el incremento en elecciones que implican mayor riesgo (Orsini et al., 2015). De manera similar, lesiones e inactivaciones farmacológicas de la corteza IL y PrL de la CPFm también disminuyen la elección de opciones más demandantes (Silveira et al., 2018) y promueven un patrón de elección poco óptimo asociado a tomar decisiones con mayor riesgo (Heilbronner et al., 2016).

El NAc recibe proyecciones excitatorias de la CPFm y la Abl, permitiendo así que este núcleo integre información referente a señales del valor de la recompensa, el esfuerzo requerido para su obtención y señales de valencia que provienen de la Abl (Silveira et al., 2018). La inactivación farmacológica del NAc genera fallas en la integración de la información referente a la opción con mayor beneficio (Floresco et al., 2018).

La CCA tiene una participación fundamental en la toma de decisiones, se ha considerado que esta región inicialmente no participa en la toma de decisiones por una opción asociada a mayor recompensa o beneficio, sino que podría estar implicada preferentemente en valorar

cuando los costos y beneficios de cada opción son más difíciles de distinguir o cuando se requiere de superar el desafío de esfuerzo físico una vez tomada la decisión (Winstanley & Floresco, 2016). En este sentido, se ha demostrado que al promover excitotoxicidad en esta región se sesga la elección a recompensas pequeñas asociadas a menor esfuerzo físico (Walton et al., 2003).

La toma de decisiones también está ampliamente modulada por sistemas monoaminérgicos que incluyen a la DA (Shelby et al. 2018). Se ha reportado en humanos que el aumento en la disponibilidad de DA posterior a la administración de su precursor, L-DOPA, mejora la preferencia por recompensas probabilísticas (Rigoli et al., 2016). Además, la inactivación farmacológica del rD1 y rD2 decrementa la elección en una tarea que implica esfuerzo físico para obtener una recompensa, a diferencia de una tarea con esfuerzo cognitivo en donde no se observaron alteraciones en la elección (Hosking et al., 2014), mientras que la activación del rD2 reduce la elección de opciones que implican mayor riesgo cuando se administra una consecuencia punitiva en una tarea de toma de decisiones (Zeeb et al., 2009).

1.3.1 Modulación de la Corteza del Cíngulo Anterior y la Toma de Decisiones

La CCA forma parte de la CPFm región que se ha relacionado con la toma de decisiones asociada con recompensas (Glascher et al., 2012). Se sabe que la CCA resulta primordial en la integración de información para guiar decisiones basadas en tareas de esfuerzo físico (Hu et al., 2021).

Basado en su conectividad y función, la CCA puede ser dividida en una parte pregenual, regiones s32, a 24, p24, p32 y d 32, activadas principalmente por recompensas; y una parte dorsal, regiones a32pr, a24pr, 33pr, p32pr y p23pr, activadas por castigos. Por ello se considera

que la CCA se relaciona con la valoración subjetiva de los estímulos gratificantes o aversivos (Rolls, 2023).

La porción dorsal de la CCA mantiene una conectividad importante con áreas corticales premotoras, por lo tanto, se considera que está involucrada en el aprendizaje acción-resultado; mientras que la porción pregenual al recibir conexiones desde la COFm y CPFvm y enviar proyecciones hacia el hipocampo conforma una ruta que dirige información sobre el valor del estímulo a la memoria episódica (Rolls, 2023).

En humanos, se ha reportado mediante imágenes de resonancia magnética funcional (RMf) la participación de la porción dorsal de la CCA y el área motora suplementaria, en tareas de decisión que implican motricidad, codificando la diferencia de los valores de las recompensas y el esfuerzo requerido entre las opciones de elección (Klein-Flügge et al., 2016).

Funcionalmente, la CCA realiza al menos tres procesos diferentes que culminan en la elección frente a diversas opciones. Primero se lleva a cabo una evaluación de los resultados positivos esperados al realizar alguna conducta asociada a cada opción, después se contrasta el esfuerzo requerido de cada conducta para obtener el resultado, es decir, se evalúa el costo-beneficio de cada opción y finalmente guía la conducta que de manera prevista involucra mayor beneficio incluso cuando implica mayor esfuerzo físico o cognitivo (Porter et al., 2019).

El empleo de modelos animales ha proporcionado avances recientes en la participación de la CCA en el proceso de toma de decisiones. En primates, neuronas de la CCA permiten evaluar la conducta asociada a una recompensa, considerando la cantidad de esta y la probabilidad para obtenerla, así como integrar información acerca de los costos temporales y físicos que conlleva. Específicamente en roedores, se ha observado que la CCA participa

mayormente en tareas que implican esfuerzo físico al integrar información sobre el valor de la recompensa (Porter et al., 2019). En este sentido, se han usado tareas con costo de esfuerzo donde se requiere que los animales realicen un mayor número de palanqueos o escalen una barrera física para obtener grandes recompensas (Hosking et al., 2014), o bien, tareas de descuento temporal donde los costos de la respuesta están determinados por la espera para obtener una recompensa mayor, frente a la entrega de una recompensa menor pero inmediata (Floresco et al., 2008).

Se ha reportado que la inducción de excitotoxicidad en la CCA resulta en una menor preferencia por la opción que requiere mayor esfuerzo físico asociado a una mayor recompensa, sin alterar la elección de una tarea con costo de demora (Rudebeck et al., 2006). Por lo anterior, se atribuye la participación de la CCA a la toma de decisiones cuando se requiere de esfuerzo físico, mientras que otras áreas como la COF participan más activamente en decisiones con costo de demora (Rudebeck et al., 2006).

Se ha reportado que la actividad de neuronas de la CCA es directamente proporcional al requerimiento de esfuerzo en tareas físicas como atravesar una rampa inclinada a diferentes ángulos, lo que podría estar relacionado con la participación de la CCA en la motivación de este tipo de tareas (Porter et al., 2019). Mientras que en tareas con requerimiento de esfuerzo cognitivo se reduce la preferencia de los animales por la opción de mayor recompensa con la inhibición farmacológica en esta región con agonistas de los receptores GABA-A y GABA-B (Hosking et al., 2014).

Se ha propuesto que el sistema DAérgico participa en la toma de decisiones en tareas con descuento temporal y costo de esfuerzo. Se ha reportado que la administración de antagonistas a receptores de DA induce elecciones impulsivas en ratas, disminuyendo la elección por una

recompensa con mayor beneficio, mientras que la administración de agonistas tiene efectos contrarios, generando mayor tolerancia a la demora cuando se elige la opción más ventajosa (van Gaalen et al., 2006). De manera similar, la administración del antagonista flupentixol redujo la preferencia por la opción de mayor esfuerzo físico o demora asociada al mayor beneficio, mientras que la administración de anfetamina con la dosis de 0.25mg/kg tuvo el efecto contrario (Floresco et al., 2008).

Hay evidencia de la expresión de rCB1 en la CCA donde participan en la toma de decisiones (Filbey et al., 2010). Se ha demostrado que la activación farmacológica de los rCB1 en esta región altera la toma de decisiones en paradigmas con costo de esfuerzo físico, disminuyendo la preferencia por la opción de mayor recompensa, mientras que su activación en la COF induce impulsividad expresada en menor tolerancia a la demora asociada a un mayor beneficio (Khani et al., 2015), sin embargo, no queda clara la participación del SEC en la toma de decisión, porque ante el bloqueo farmacológico de los rCB1 decreta el palanqueo de ratas para obtener alimento palatable en una tarea con costo de esfuerzo (Sink et al., 2008).

1.3.2 Análisis Experimental de la Conducta de Toma de Decisiones

La toma de decisiones es un proceso mediante el cual se identifican y seleccionan opciones, considerando el valor, costo, preferencias y consecuencias asociadas a la opción seleccionada (Gold & Shadlen, 2007).

En la actualidad, se emplean principalmente dos modelos animales para estudiar los elementos cognitivos, conductuales y neurobiológicos en la toma de decisiones, el enfocado a la guía por reforzamiento que consiste en la capacidad para elegir entre diferentes acciones competitivas en función del valor relativo de los beneficios y sus consecuencias; y el modelo

perceptual que se basa en la información sensorial del ambiente que permite dirigir las conductas (Kermani et al., 2018).

El elemento importante en la toma de decisiones guiada por reforzamiento es la evaluación del costo-beneficio, en ella, el animal debe realizar un cálculo predictivo de los beneficios asociados a cada opción y al mismo tiempo evaluar el costo requerido, ya sea cognitivo o físico (Gold & Shadlen, 2007), mientras que en la toma de decisiones perceptual, las señales simbólicas y contextuales son la principal fuente de información que permite integrar señales multisensoriales de manera óptima y así generar una discriminación de opciones (Shi & Müller, 2013).

En la toma de decisiones guiada por reforzamiento se han propuesto diferentes diseños, el laberinto en T es una de las tareas más empleadas que permite evaluar elementos cognitivos. En la configuración más básica se coloca el reforzador en ambos brazos del laberinto, el animal debe elegir entre ambas opciones, cada una con distintos parámetros, como la preferencia natural entre reforzadores y la diferencia entre el costo asociado a cada opción. El costo puede tener criterios de demora o de esfuerzo (Kermani et al., 2018).

Se han implementado diseños para evaluar la toma de decisiones en tareas con costo de esfuerzo y demora en cajas de condicionamiento operante, uno de los diseños más simple pero efectivo, es el que permite a los animales elegir entre dos opciones, una con requerimiento de la operante asociada a alimento palatable y la otra con entrega de alimento estándar sin costo de esfuerzo (Randall et al., 2012).

En diseños con programas concurrentes se emplean dos palancas activas asociadas a alimento palatable, pero con requerimientos de esfuerzo distintos, es decir, los animales pueden

elegir entre palanquear más para obtener mayor recompensa o realizar menos esfuerzo para obtener menor recompensa. En estos diseños también se pueden emplear variantes como relacionar una razón progresiva a una palanca y una razón fija a la otra (Winstanley & Floresco, 2016).

En tareas con costo de demora se puede evaluar el retraso progresivo de la entrega del reforzador y la asociación con el decremento de su valor, permitiendo identificar las decisiones definidas como impulsivas cuando la opción de mayor demora que otorga la mayor recompensa se descarta por la opción de la demora inmediata, pero con una recompensa menor. Las variantes en estos diseños dependerán del tamaño de las demoras y de los reforzadores. Estas tareas permiten evaluar la preferencia, latencia y punto de indiferencia o indecisión, este último entendido como el momento subjetivo donde el animal no discrimina la mejor opción, y medido objetivamente como el punto donde la probabilidad de elegir cualquiera de las opciones es igual (Koffarnus & Kaplan, 2018).

Finalmente, el uso de tareas con costo de esfuerzo y demora permite evaluar conductas impulsivas, definidas como la preferencia por recompensas inmediatas, pero de menor magnitud, sobre las de mayor beneficio (Sosa & Dos Santos, 2018).

1.4 Neurobiología del Sistema Endocannabinoide en la Ingesta de Soluciones de Sacarosa y EtOH

A pesar de la poca evidencia de la participación del SEC en la ingesta de soluciones azucaradas, se ha reportado que los rCB2 pudieran participar en la regulación hedónica de la conducta alimentaria. En modelos animales donde se implementan manipulaciones genéticas para desgastar la expresión de los rCB1 y rCB2, se observó que la administración sistémica con diferentes dosis de cannabidiol (CBD) disminuye la autoadministración de sacarosa mediante un

efecto de agonismo con el rCB2 en los ratones *knock out* de los rCB1 y antagonismo de los rCB1 en ratones *knock out* de los rCB2 (Bi et al., 2019).

En humanos, los atracones de alimento se han relacionado con el aumento de anandamida (AEA) en plasma sanguíneo, sin reportarse alteraciones en los niveles de 2-araquidonoilglicerol (2-AG) (Monteleone et al., 2005). Por otro lado, en modelos animales se han encontrado resultados diferentes: dietas altas en grasas decremantan los niveles de AEA en el estriado dorsal, amígdala e hipocampo (Satta et al., 2018), además se ha descrito que la sobreingesta de alimentos ricos en sacarosa aumenta la expresión de los rCB1 en la CPF (Mancino et al., 2015) y NAc, además incrementa la AEA en la CPF y disminuye el 2-AG en hipocampo (de Sa Nogueira et al., 2021).

Se encontró que, ante administraciones sistémicas con el agonista inverso de los rCB1, el SR141716 (SR), con la dosis de 3mg/kg redujo 43% la ingesta de alimento palatable y rico en sacarosa en un paradigma de acceso intermitente. Mientras que con la dosis de 1mg/kg redujeron conductas de riesgo y el consumo compulsivo, lo que sugiere la participación de los rCB1 en el control ejecutivo en la conducta alimentaria (Dore et al., 2014).

Respecto a la participación del SEC en la regulación de la ingesta de EtOH los hallazgos son controvertidos ya que se ha reportado que la exposición crónica puede decremantar la expresión de los rCB1 en ratones (Pava & Woodward, 2012), mientras que la exposición aguda aumenta los niveles de AEA y 2-AG en cultivos de células hipocampales. Este aumento de eCBs resulta en una disminución en la liberación de glutamato (Basavarajappa et al., 2008); sin embargo, hay reportes que demuestran la reducción de la presencia de eCBs en el hipocampo, cuerpo estriado, CPF, amígdala y cerebelo, posteriores a una exposición a corto plazo de EtOH (Pava & Woodward, 2012).

En un reporte de registro electrofisiológico *in vivo* se observó que la administración del agonista a los rCB1, el WIN 55,212-2 (WIN), reduce el efecto inhibitorio producido por la administración aguda de EtOH asociados a cambios en el patrón de disparo de neuronas piramidales del núcleo de la Abl (Perra et al., 2008), además de disminuir la señal de GABA en neuronas piramidales de la amígdala, producida a través de la exposición aguda de EtOH (Roberto et al., 2010).

En modelos animales con autoadministración de EtOH asociada a una operante, se ha reportado el aumento de 2-AG sin encontrar alteraciones de AEA en el Nac (Caillé et al., 2007). En modelos que además se expresa CTA se ha reportado que la microinyección en el VTA con WIN incrementa la ingesta de EtOH durante la segunda mitad del periodo de exposición en el paradigma DID, confirmando la participación de los rCB1 en la motivación por consumir EtOH (Linsenhardt & Boehm, 2009).

En estudios que integran la exposición a EtOH y sacarosa, se ha encontrado que el bloqueo de los rCB1 mediante la administración del antagonista SR inhibe el consumo de ambas soluciones en ratones C57BL/6 (Arnone et al., 1997). Resultados similares encontraron que la frecuencia de la operante asociada al consumo disminuyó de manera dosis dependiente posterior a la administración del SR (Economidou et al., 2006). En ratas de la cepa *Wistar* también se ha replicado el efecto inhibitorio en el consumo de EtOH y sacarosa con la administración del SR en paradigmas de autoadministración (Pava & Woodward, 2012).

Por último, se ha reportado que la ingesta de EtOH disminuye con el desgaste genético y el bloqueo farmacológico de los rCB1, efecto diferenciado por la edad de los animales. En ratones de mayor edad se presenta la disminución de la ingesta. Lo que sugiere que el SEC participa en la decodificación de las propiedades hedónicas del EtOH dependiente del desarrollo,

lo que lo hace un objetivo molecular para contrarrestar el consumo problemático de EtOH (Pava & Woodward, 2012).

1.4.1 Participación de los rCB2 en la Conducta Tipo Atracón de EtOH y la Toma de Decisiones

El rCB2 se expresa ampliamente en el cerebelo, regiones límbicas como hipocampo y amígdala, además de regiones del circuito de la recompensa como el VTA y NAc. Se expresa en neuronas que liberan DA, glutamato y GABA, y en células gliales como astrocitos y microglía (García-Gutiérrez et al., 2022).

Son pocos los reportes en humanos que se enfocan a evaluar la participación de los rCB2 en la CA de EtOH o incluso en el alcoholismo. Ishiguro et al. (2007) demostraron en ratones que la ingesta de EtOH disminuye la expresión del gen *Cnr2* en el mesencéfalo ventral, asociado a un incremento en la preferencia por EtOH, pero no encontraron alteraciones en los animales con baja preferencia. En pacientes *post mortem* que tuvieron dependencia al EtOH se encontró baja expresión del *Cnr2* en la CPF dorsolateral y el NAc lo que parece relacionarse con las propiedades hedónicas del EtOH (García-Gutiérrez et al., 2022).

En un modelo de rata con patrones de ingesta que permitieron expresar la CTA de EtOH, también se observó un decremento en la expresión de los rCB2 en el cuerpo estriado e hipocampo en ratas adultas que fueron expuestas a la administración intraperitoneal (3g/kg) de EtOH durante la adolescencia (Sánchez-Marín et al., 2017).

En otro reporte evaluaron las alteraciones cognitivas, aprendizaje y memoria, asociadas a la CTA en ratones expuestos en la adolescencia a soluciones con EtOH, encontraron que con la exposición temprana se acelera el deterioro cognitivo semejante a lo que sucede en el

envejecimiento, además hallaron un incremento del transcrito y de la proteína del rCB2 en el hipocampo. Este incremento podría participar como un mecanismo neuroprotector ante los daños cognitivos asociados a la ingesta de EtOH (Ledesma et al., 2021).

Serrano et al. (2012) evaluaron en un modelo de rata los efectos de la exposición continua o intermitente del EtOH con periodos de retirada de 6 y 24h sobre la expresión del rCB2 en la amígdala. No encontraron alteraciones en la expresión del rCB2 posterior a las 6h del retiro de EtOH, ni en ninguno de los dos patrones de exposición, sin embargo, encontraron un decremento significativo del rCB2 en las ratas expuestas al acceso intermitente de EtOH posterior a las 24h de retirada, lo que sugiere la participación del rCB2 de la amígdala en estados emocionales negativos asociados a la dependencia y abstinencia del EtOH.

En otro modelo de 21 días de administración intraperitoneal de EtOH (2g/kg) se encontró un decremento significativo en la expresión del rCB2 en la corteza infralímbica e hipocampo y posterior a cinco días de retirada de EtOH se observó el efecto contrario en la región *Core* del NAc y en la CCA (Coelhoso et al., 2013).

Estos hallazgos permiten identificar la relación entre la expresión de la CTA de EtOH y la participación de los rCB2, específicamente en los cambios de expresión en regiones cerebrales asociadas al procesamiento cognitivo como la CCA y CPF dorsolateral, que se asocian con la toma de decisiones y el control de estímulos, funciones comprometidas en la CTA y en la dependencia a EtOH.

Aunque en la actualidad la investigación del SEC se concentra en conocer la participación del rCB1 en el procesamiento de la recompensa, funciones motoras y cognitivas,

ahora se sabe que también el rCB2 podría estar implicado en la modulación de diferentes conductas relacionadas al procesamiento ejecutivo como la toma de decisiones.

Si bien existe poca evidencia sobre la participación de los rCB2 en la toma de decisiones, en nuestro laboratorio de Investigación en Nutrición se reportó que la activación farmacológica de los rCB2 de la CCA en ratas con CTA por alimento alto en grasas incrementa la motivación, sin alterar la toma de decisión una vez establecida en una tarea con costo de esfuerzo, y de manera similar se observó el incremento en la preferencia por la opción de reforzamiento inmediato en una tarea con costo de demora (Romero-Ochoa, 2022).

1.5 Justificación

Debido a diferentes problemas sanitarios relacionados con la ingesta de alimentos, el actual gobierno de México ha implementado políticas enfocadas a disminuir el consumo de alimentos y bebidas ultraprocesadas, tal es el caso del Sistema de Etiquetado Frontal de Alimentos y Bebidas (SEFAB) que consiste en la presentación de cinco sellos de advertencia en forma de octágono que indican excesos en nutrimentos e ingredientes de alimentos y bebidas no alcohólicas como: calorías, grasas saturadas, grasas trans, azúcar y sodio (Instituto Nacional de Salud Pública, 2021).

De igual forma, la ingesta de bebidas alcohólicas resulta alarmante. La edad promedio de inicio en su consumo es de 10.6 años y su prevalencia durante la educación media y media superior es de 53.2% (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios [COFEPRIS], 2022). Ante este panorama, se ha fortalecido la *Estrategia nacional para la prevención del consumo de bebidas alcohólicas en menores de edad* implementada por la COFEPRIS y la Comisión Nacional contra las Adicciones (CONADIC).

La investigación neurobiológica es una herramienta que permite dilucidar el origen, desarrollo y expresión de diversos trastornos de la conducta alimentaria y consumo problemático de sustancias. En la CA de sacarosa y dependencia al EtOH se pretende encontrar el correlato entre la función cerebral y la expresión conductual. Para ello se diseñan modelos animales que impulsan la creación de tratamientos efectivos de bajo costo contra estas patologías, además de favorecer la generación de conocimiento sobre circuitos y sistemas cerebrales, como el SEC, que participa en dicha modulación.

Al respecto, en sujetos no humanos se emplean modelos de CTA y como elemento común con la dependencia al EtOH comparten la pérdida de control en el consumo, es decir, conductas compulsivas producto de la impulsividad que altera la toma de decisiones y, subsecuentemente, promueve el establecimiento de dependencia. Como se mencionó anteriormente, el SEC participa en la toma de decisiones a través de la activación de los rCB1 de la CCA en tareas que implican costo de esfuerzo y demora (Filbey et al., 2010; Khani et al., 2015); sin embargo, hay poca evidencia relacionada con el funcionamiento e implicaciones del rCB2 en el desarrollo de conductas impulsivas, por lo que es un blanco molecular de interés para describir la comunicación celular entre la alteración de la toma de decisiones y el establecimiento de la CTA.

Por lo anterior, en la presente tesis se evaluaron los componentes cognitivos en términos de la toma de decisión en la expresión de la CTA de EtOH en ratas adolescentes, contemplando con ello el desarrollo de impulsividad y una alteración en la toma de decisiones relacionada a tareas con costo de esfuerzo y demora, además de esclarecer si la interacción entre estas variables es modulada por los rCB2 de la CCA.

1.6 Planteamiento del problema

En la actualidad, el bajo costo, variedad y fácil acceso a alimentos ultraprocesados con exceso de calorías y azúcares, sumado al sedentarismo se relacionan con el desarrollo de alteraciones en la conducta alimentaria que se asocian al desarrollo de la obesidad y el TPA (Zhang, 2020).

Uno de los elementos con mayor relevancia en la alteración de la conducta alimentaria es la sobreingesta, que generalmente es de alimentos ricos en grasas y azúcares, como sucede en humanos, los animales tienen una preferencia por este tipo de alimentos (Smail-Crevier et al., 2018). Los modelos animales permiten examinar los aspectos neurobiológicos relacionados con la CTA, por ello se han desarrollado diferentes paradigmas con la finalidad de asemejar lo más posible la interacción entre variables que suceden en humanos, en este sentido los arreglos experimentales de CTA permiten identificar elementos cognitivos y conductuales asociados.

La CTA se ha desarrollado principalmente con alimentos altos en grasas y coincide con la reciente propuesta de una adicción al alimento (Hauck et al., 2020), sin embargo, aún hay mucha controversia al respecto, al contrario de los alimentos y soluciones altas en sacarosa, que se acepta bien su adicción (Avena et al., 2008), además de que son más económicos y de fácil acceso en la experimentación.

La CTA forma parte del patrón conductual antecedente al establecimiento de la dependencia al EtOH (Sprow & Thile, 2012). La CTA a la sacarosa y la dependencia a EtOH comparten al menos dos elementos, el *craving* y la sensación de pérdida de control, este último es un tipo de impulsividad que está presente en conductas compulsivas.

La impulsividad es un elemento cognitivo de la CTA que modifica la toma de decisiones y debe considerarse al evaluar alteraciones en la ingesta de alimentos y consumo de EtOH. Aún hace falta evidencia para determinar si las conductas impulsivas de sujetos expuestos a soluciones de sacarosa alteran la toma de decisión en tareas con descuento temporal, algunos investigadores reportan no encontrarlas (Wong et al., 2017).

Aunado a lo anterior, se sabe que el SEC participa en la modulación de la CTA y la toma de decisiones; sin embargo, la mayor parte de evidencia relacionada con la participación de los receptores a cannabinoides se ha enfocado en describir la función de los rCB1, por ello el desarrollo de investigaciones centradas en el funcionamiento de los rCB2 es reciente, específicamente en regiones que participan en los procesos cognitivos de la CTA tanto de sacarosa como de EtOH.

Interesantemente, la expresión de los rCB2 en regiones cerebrales involucradas en funciones ejecutivas, como la CCA, se modifica por la exposición continua y posterior retirada de EtOH, comprometiendo la toma de decisiones y control de estímulos (Coelhoso et al., 2013), alteraciones que se asocian con la dependencia a EtOH e ingesta excesiva de alimentos palatables. En este sentido, se reportó en un modelo de rata que los rCB2 de la CCA participan en la motivación de una elección tomada para conseguir alimento palatable en una tarea con costo de esfuerzo (Romero-Ochoa, 2022).

Aún hay lagunas de conocimiento que deben ser abordadas para explicar la participación de los rCB2 en la toma de decisión en condiciones muy específicas como el TPA, la dependencia a EtOH, o el consumo crónico de bebidas azucaradas. La toma de decisiones pudiera estar alterada por la impulsividad debida al consumo de soluciones azucaradas, que en algunos casos también contienen EtOH, aumentando el riesgo de consumo problemático sin que las personas lo

sepan. Es por ello, que dar evidencia que elucubre el mecanismo del SEC en esta función cognitiva permitirá proponer tratamientos basados en ligandos cannabinoides, que actualmente ganan popularidad entre la población general, y terminan por consumir fitocannabinoides como recurso terapéutico, incluida la industria farmacéutica que ya ha propuesto alternativas.

Por ello, toma relevancia generar nuevas líneas de investigación enfocadas a evaluar la participación de los rCB2 de núcleos y áreas cerebrales involucradas en distintas etapas y procesos cognitivos, como la expresión de la CTA, motivación, impulsividad y toma de decisiones en la dependencia de EtOH e ingesta excesiva de alimentos palatables.

1.7 Objetivo General

Determinar la participación de los rCB2 de la CCA en ratas expuestas a un modelo de CTA de EtOH en la toma de decisiones en tareas con costo de esfuerzo y demora.

1.7.1 *Objetivos Particulares*

1. Estandarizar el modelo de la conducta tipo atracción de EtOH en ratas de 17 DPN.
2. Estandarizar las tareas con costo de esfuerzo y demora para evaluar la toma de decisión en ratas con CTA de EtOH.
3. Estandarizar el modelo de impulsividad en la toma de decisión en tareas con costo de esfuerzo y demora.
4. Determinar el efecto de la activación farmacológica de los rCB2 en la CCA sobre la toma de decisiones en una tarea con costo de esfuerzo y demora.

1.8 Hipótesis

A partir de la evidencia disponible hasta el momento y en concordancia con los objetivos planteados en este trabajo, se propone la siguiente hipótesis:

La activación farmacológica de los rCB2 en la CCA disminuirá la conducta impulsiva evaluada en la toma de decisión en una tarea con costo de esfuerzo y en una tarea con costo de demora, en ratas que expresen la conducta tipo atracón de EtOH.

Para determinar si la hipótesis es verdadera, se evaluó la impulsividad en los programas de reforzamiento concurrente y demorado, antes y después de la exposición al paradigma de la CTA de EtOH.

2. Método

2.1. Diseño de Investigación

La investigación fue un experimento puro con un diseño factorial en una configuración de 4x4 para un total de 16 grupos en observación experimental (Hernández et al., 2014). Se manipularon dos variables independientes, la CTA de EtOH y la activación de los rCB2. La variable dependiente es la impulsividad en la toma de decisión evaluada en las tareas con costo de esfuerzo y demora.

2.2. Sujetos

Se emplearon 20 ratas macho de la cepa *Wistar* con 17 DPN e ingenuas experimentalmente al momento de arribar al laboratorio. Se obtuvieron del bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FES-I). Posterior a su llegada al laboratorio se alojaron en grupos de 5 sujetos durante tres días y a partir de los 20 DPN se alojaron individualmente en cajas hogar estándar de acrílico (42 x 25.5 x 20cm).

Todos los sujetos se mantuvieron en acceso *ad libitum* de agua corriente y alimento estándar de laboratorio (LabDiet® 5010) durante el periodo de habituación, recuperación posterior a la cirugía y en fines de semana. Se privaron de alimento estándar y agua al 85% de su peso corporal durante las fases de entrenamiento conductual y en el protocolo de expresión de la CTA.

Las condiciones de alojamiento, procedimientos de trabajo, manipulación y cuidado de los animales se realizaron con apego a los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) en el apartado de especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.

2.3. Escenario

Las fases de protocolo experimental se llevaron a cabo en los laboratorios 15 y 18 de Neurobiología de la Alimentación, pertenecientes al Grupo de Investigación en Nutrición (GIN) ubicados en la Unidad de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias de la Salud y Educación (UIICSE) dentro de las instalaciones de la FES-I. El trabajo en el protocolo experimental se llevó a cabo en el laboratorio 15 de la UIICSE en un horario de lunes a viernes de 10:00 a 18:00 horas.

Las condiciones de alojamiento en el bioterio del laboratorio fueron el estándar para la especie con una temperatura controlada de $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 52% de humedad y un ciclo invertido de luz/oscuridad de 12 horas (10:00-22:00h apagado/encendido de luces), todas las manipulaciones experimentales se llevaron a cabo durante la fase oscura.

2.4. Dietas

Se alimentó con una dieta estándar de laboratorio *LabDiet*® 5010 con un perfil nutricional de 28.668% kilocalorías (Kcal) de proteínas, 13.111% Kcal de grasas, 58.221% de Kcal de carbohidratos y 6.0% Kcal de fibra cruda con un aporte total de 3.1 Kcal/g. En el entrenamiento operante se empleó como reforzador pellets de sacarosa sabor chocolate de 45mg desarrollados por *Bio-Serv*® F0025, con un perfil de 0.2% Kcal de proteínas, 0.6% Kcal de grasas, 94.3% Kcal de carbohidratos, 5.0% Kcal de fibra cruda y un aporte total de 3.83Kcal/g.

En las sesiones para expresar la CTA se empleó una solución de EtOH al 2.0% con un aporte calórico de 0.1414 cal/g, la solución de EtOH + sacarosa al 2.0% + 0.15% respectivamente con un aporte calórico de 0.1474 cal/g, por último, la solución de sacarosa a 0.15% con un aporte calórico de 0.006 cal/g.

2.5. Fármacos

Para las cirugías estereotáxicas se empleó como sedante un coctel que contenía *Zoletil 100*® desarrollado por *Virbac*® y Xilacina desarrollada por *PiSA Agropecuaria*®, con una solución final conteniendo 50mg de Tiletamina, 50mg de Zolazepam, 20mg de Clorhidrato de Xilacina y 1mL de solución salina (s.s.); la dosis de sedación fue de 100mg de Zoletil/20mg Xilacina/100mL/kg de peso corporal, administrada vía intraperitoneal. Posterior a las cirugías como tratamiento profiláctico se empleó el antibiótico *Enroxil*® al 5% de Enrofloxacin con una dosis de 100mL/kg de peso corporal.

Para la manipulación farmacológica y evaluación de la participación de los rCB2 se empleó como agonista selectivo al 1-(2,3-dichlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-(3-(morpholin-4-yl)ethyl)-1H-indole hydrochloride [GW405833] con una K_i de 3.6nM, se diluyó con dimetilsulfóxido (DMSO) + s.s. como vehículo; el coctel tuvo una proporción final de 0.25% de GW405833, 1% de DMSO y 98.75% de s.s., la dosis de las microinyecciones unilaterales *in situ* en la CCA fueron de 0.25µg/0.5µL por animal a una tasa de difusión de 3 minutos, pasado ese periodo se concedieron 15 minutos de perfusión en el tejido. Para bloquear a los rCB2 se empleó al agonista inverso 6-Iodo-2-methyl-1-[2-(4-morpholinyl)ethyl]-1H-indol-3-yl](4-methoxyphenyl) methanone [AM630], con una K_i de 31.2nM, se usó el mismo protocolo para diluirlo que el reportado con el GW405833, la solución final tuvo una proporción de 1% de AM630, 1% de DMSO y 98% de s.s., la dosis de las microinyecciones unilaterales *in situ* en la CCA fueron de 1µg/0.5µL por animal a una tasa de difusión de 3 minutos, ambos compuestos fueron desarrollados por el laboratorio comercial *Merck*®.

2.6. Aparatos

Para el entrenamiento de la conducta operante se emplearon ocho cajas automatizadas de condicionamiento operante tipo Skinner para rata, desarrolladas por *MED-ASSOCIATES INC*®, cada caja acondicionada con dos palancas retractiles, dos luces ubicadas sobre las palancas, una luz general, dispensador de sólidos y líquidos, bocina, ventilador, paredes de acrílico y piso de rejilla. La ejecución de los códigos de los programas de reforzamiento positivo de razón fija 1 y 5, reforzamiento demorado y concurrente, se hizo con el *software MED PC-IV*®. El diseño y la redacción de los códigos se realizó en el laboratorio de Neurobiología de la Alimentación de la FES-I.

La administración intra-CCA de los fármacos se hizo con una jeringa digital *Hamilton*® *serie 701 Gastight*, un catéter de 27 G y un microinyector de acero inoxidable de 12.5mm, que se manufacturó en el laboratorio, se acopló a la cánula guía implantada en la CCA. Se empleó un vibratomo *Campden*® para realizar los cortes coronales de los cerebros fijados.

2.7. Cirugía Estereotáxica

A los 85 DPN, los animales fueron anestesiados con *Zoletil 100*® (100mg/kg i.p.) y xilacina (22.5mg/kg i.p.) posteriormente se les implantó una cánula guía unilateral en la zona subyacente de la CCA (Cg1 en rata) con coordenadas anterioposterior: -1.2mm con relación a Bregma, lateromedial: ± 0.3 mm con respecto a la línea media y dorsoventral -0.6mm con relación a la dura madre, se partió del reporte de White et al. (2018) y corregidas de acuerdo con el Atlas de Paxinos y Watson (2006).

Como parte de los cuidados post quirúrgicos se les dio tratamiento profiláctico con el antibiótico *Enroxil*® al 5% (2.5mg/kg i.p) durante tres días, con un periodo de recuperación de 10 días (hasta los 95DPN) con alimento y agua *ad libitum*.

2.8. Procedimiento y Protocolo Experimental

En la Figura 1 se muestra gráficamente el protocolo experimental del modelo de CTA de EtOH y el modelo de impulsividad. El protocolo comenzó con el arribo de las ratas al bioterio en el DPN 17, desde ese momento se registró diariamente el peso corporal, ingesta de líquidos y alimento. Se distribuyeron los animales en cuatro grupos diferentes de cinco integrantes cada uno, el grupo control (Ctrl) con acceso a agua corriente, grupo de acceso a 2% de EtOH (EtOH), grupo de acceso a 0.15% de sacarosa (Sac) y grupo de acceso a EtOH (2%) + sacarosa (0.15%) (EtOH+Sac). Se alojaron en conjunto a cada grupo en una caja hogar para cinco animales, durante tres días de habituación como medida preventiva de alienación parental por su edad.

La asignación de los animales a cada grupo se realizó distribuyendo el mismo número de sujetos de mayor y menor peso corporal, para que la media entre grupos no fuera mayor a $\pm 0.5g$ en el peso corporal y así controlar la variable extraña de maduración, es decir que el genotipo de la ganancia de peso corporal se controló en el desarrollo del experimento. A los 20 DPN a cada animal se les trasladó a cajas hogar individuales para comenzar con el modelo de CTA de EtOH.

El modelo de CTA de EtOH consistió en dos fases, la primera fue de establecimiento con sesiones de dos horas de acceso a las soluciones tres veces por semana durante los primeros 21 días. Posteriormente en la fase de expresión, las sesiones de acceso a las soluciones se realizaron en ciclos de 15 días, con 4 días de acceso por semana, hasta finalizar el protocolo experimental.

Al culminar la fase de *establecimiento* del modelo de CTA de EtOH, se inició el entrenamiento de la operante, dividido en cuatro fases: *preentrenamiento*, *entrenamiento*, *mantenimiento* y *prueba*. Simultáneamente a la fase de expresión se llevó a cabo el *preentrenamiento* de la operante que nos permitió evaluar a la conducta impulsiva, con un programa de condicionamiento por operante libre o automantenimiento, con el objetivo de

promover la asociación entre la entrega del reforzador y la operante (palanquear), consistió en la presentación aleatoria de estímulos discriminativos (palancas, luces y tono) simultáneamente con el estímulo reforzante (entrega de un pellet de sacarosa).

De no presentarse la asociación, los animales pasaron por un procedimiento de dos sesiones de modelamiento y posteriormente tres sesiones de moldeamiento por aproximaciones sucesivas, teniendo como criterio ≥ 30 respuestas en la palanca activa por sesión para continuar con la siguiente fase.

Una vez terminado el *preentrenamiento*, los animales se *entrenaron* en programas de reforzamiento positivo en la configuración de razón fija 1 (RF1) y 5 (RF5) con sesiones diarias de 30 minutos de lunes a viernes en el programa de RF1 en el que el requerimiento de respuesta consistió en una presión de la palanca para obtener el reforzador (pellet de sacarosa) contingente a los estímulos discriminativos de luz asociada a la palanca activa y un tono de 45 decibeles durante cinco segundos; una vez alcanzada la estabilidad en la tasa de respuesta \leq al 20% en las tres últimas sesiones, entonces se sometía a los sujetos al programa de RF5 con un criterio de respuesta de cinco palanqueos para obtener un reforzador, con el mismo criterio de cambio que el programa anterior.

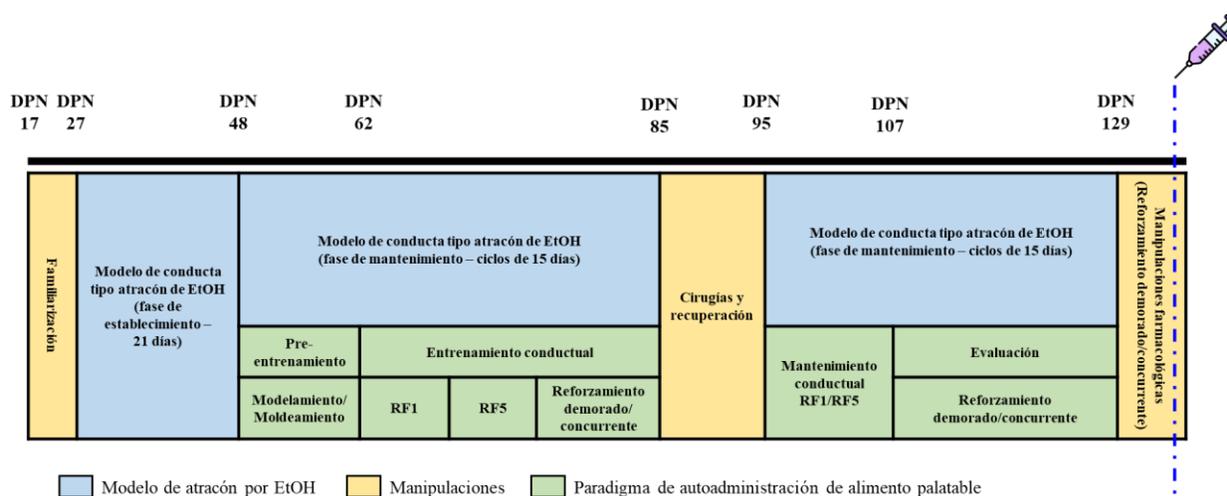
Al concluir el *entrenamiento* en RF1 y RF5, se sometieron a las tareas de toma de decisión un día por sesión con el programa de reforzamiento concurrente (costo de esfuerzo) y el programa de reforzamiento demorado (costo de demora). Seguidamente se realizó la cirugía estereotáxica a los 85 DPN, y al finalizar el periodo de recuperación se sometió a los sujetos a la fase de *mantenimiento* en los programas de RF1 y RF5 durante 10 sesiones, para controlar las probables alteraciones ejecutivas y cognitivas que pudieran haberse suscitado por la cirugía. Posteriormente se realizó el *entrenamiento* en los programas de reforzamiento concurrente y

demorado durante 10 y 15 sesiones respectivamente para determinar la conducta impulsiva en la toma de decisión con costo de esfuerzo y demora.

Una vez terminado el *entrenamiento* en estos programas, se realizaron las manipulaciones farmacológicas en las tareas con costo de esfuerzo y demora. El procedimiento de microinyección consistió en preparar las microjeringas cargadas con el fármaco correspondiente al día de tratamiento con el volumen indicado siguiendo el plan del cuadro latino, posteriormente se administró el fármaco en un tiempo de uno a tres minutos y se otorgó un minuto adicional para permitir la perfusión en el tejido, seguidamente se desacopló el microinyector y se corroboró que el sistema no estuviera bloqueado para preparar la siguiente dosis y continuar con las administraciones. Al término, los animales fueron sacrificados para extraerles el tejido cerebral y realizar el análisis histológico.

Figura 1

Representación gráfica del diseño experimental



2.8.1. Modelo de Conducta Tipo Atracción de EtOH

El modelo empleado se fundamentó en lo reportado por Levine et al. (2021) y Williams et al. (2018) con respecto a las condiciones de acceso y concentraciones empleadas en las soluciones, integrando sus resultados y adaptando las condiciones del laboratorio de Neurobiología de la Alimentación.

Previo al acceso a las soluciones, se llevó a cabo una familiarización a la solución correspondiente durante cinco días para evitar aversión al EtOH y/o a la sacarosa; se presentó diariamente durante 10-15 minutos un bebedero solo con aroma de la solución y posteriormente con la solución, sin privación de alimentos o líquidos.

Se sometió a los animales a un itinerario de acceso intermitente a cuatro soluciones, el grupo EtOH tuvo acceso a una solución de EtOH al 2%, el grupo sacarosa tuvo acceso a una solución de sacarosa al 0.15%, el grupo EtOH + Sac tuvo acceso a una solución de EtOH al 2 y 0.15% respectivamente, y un grupo control con acceso agua corriente. Se realizó en dos fases, la de establecimiento con 21 días de acceso continuo y la de expresión con ciclos de 15 días de acceso por 15 días de retirada.

Para la fase de establecimiento los sujetos se privaron de líquidos durante 18h previas a los días de acceso, correspondientes a los lunes, miércoles y viernes, con descanso en condiciones *ad libitum* los demás días de la semana, hasta los 48DPN. Durante la fase de expresión se mantuvo la privación de líquidos de 18h previas a la exposición de las soluciones; sin embargo, se modificó el patrón de acceso a 2h los primeros tres días (lunes, martes y miércoles), y 4h en el cuarto día (jueves), con descansos en condiciones *ad libitum* de agua los últimos tres días de la semana, esta fase permaneció durante el resto del protocolo experimental.

2.8.2. Modelo de Impulsividad Determinada con una Operante en la Toma de Decisión

El programa con costo de esfuerzo consistió en la presentación de dos palancas activas asociadas cada una a una serie de razón progresiva diferente, la palanca izquierda se asoció a una razón progresiva lineal $(x+1) + (x+2)$ (*serie: 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141*) en la que los sujetos podían obtener una recompensa menor, pero ejerciendo menor esfuerzo físico. Por otro lado, la palanca derecha se asoció a una razón progresiva exponencial ($5^{0.2*x}$) (*serie: 1, 3, 5, 8, 11, 15, 19, 23, 27, 32, 37, 42, 47, 52, 58, 64, 70, 76, 83, 89, 96, 103, 110, 118, 125, 133, 140, 148, 156, 164, 173, 181, 190, 198, 206, 214, 222, 230*) en la que se podían obtener una recompensa mayor de cinco pellets de sacarosa, pero realizando un mayor esfuerzo físico.

La peculiaridad de este arreglo fue que la serie lineal, inicialmente otorgó más reforzadores con menor trabajo, al contrario de la palanca asociada a la serie exponencial que comenzó otorgando menos reforzadores con requerimientos de esfuerzo mayor; pero, a la mitad de la serie se invirtió el costo-beneficio de cada palanca, para obtener el mayor beneficio en la sesión había que cambiar la elección en el ensayo seis de la sesión. Cada sesión concluía al transcurrir 10 minutos sin emisión de la operante, teniendo un número de ensayos variable para cada animal sujeto a su motivación.

De manera similar, el programa con costo de demora consistió en la presentación de las dos palancas activas, cada una asociada a un criterio de demora diferente, es decir, al presionar la palanca izquierda se obtenía un reforzador pequeño pero inmediato, mientras que al presionar la palanca derecha se entregaban cinco reforzadores, pero asociados a una serie temporal de

demora; los criterios de demora fueron de 1, 3, 7, 15 y 30 segundos, cada demora se entrenó cinco sesiones y finalizó al completar 30 ensayos.

Para la tarea con costo de esfuerzo se emplearon 10 sesiones de entrenamiento, mientras que para la tarea con costo de demora se emplearon 15 sesiones, posteriores al periodo de recuperación de la cirugía estereotáxica.

2.8.3. Participación de los rCB2 en la CCA en la Toma de Decisión en una Tarea con Costo de Esfuerzo y Demora

Posterior a las sesiones de entrenamiento en las tareas con costo de esfuerzo y demora se realizaron microinyecciones para administrar los fármacos en la CCA con un esquema de contrabalanceo tipo cuadro latino, en que se evaluó la participación de los rCB2 en la toma de decisiones. Todos los animales se sometieron a todos los tratamientos, la secuencia de los tratamientos fue la misma para todos los animales y tuvieron el mismo número de tratamientos. Los tratamientos fueron: vehículo (99% s.s.+1%DMSO, 0.5µL), agonista GW405833 (0.25µg/0.5µL en 1% de DMSO + 98.75 s.s.), antagonista AM630 (1µg/0.5µL en 1% de DMSO + 98 s.s.) y el coctel del antagonista + agonista (AM630+GW405833).

Se consideró el control de la variable extraña de estrés por manipulación en el procedimiento de microinyección, por lo que, previo al primer tratamiento farmacológico se realizó una *prueba falsa* en la que se simuló, siguiendo todos los pasos como si se administraran los fármacos con el objetivo de habituar a los animales al procedimiento, posteriormente se llevaron a cabo las administraciones en días alternados dejando un día de descanso.

Las microinyecciones intra-CCA se realizaron dos horas antes de las evaluaciones operantes en las tareas con costo de esfuerzo y costo de demora, considerando el tiempo que tardaría el fármaco en hacer efecto.

2.8.4. Análisis Histológico

Al concluir con las manipulaciones farmacológicas se sacrificaron a los animales para obtener el tejido cerebral, se almacenaron en viales con paraformaldehído al 4% y a temperatura ambiente, durante al menos 3 días para garantizar la completa absorción y fijado del tejido, posteriormente se realizaron los cortes coronales de 300 micrometros en un vibratomo.

Para verificar los sitios de microinyección en la CCA, una vez realizados los cortes se seleccionaron aquellos que contuvieran la trayectoria de la cánula y los sitios de inyección para fotografiarlos, posteriormente a través de un computador se realizó el análisis comparativo con los esquemas correspondientes a la CCA del Atlas de Paxinos y Watson (2006).

2.8.5. Análisis Estadístico

El registro diario de peso y ganancia corporal se expresó en gramos, el consumo de sólidos y líquidos en gramos y Kcal. Para el análisis estadístico se empleó un ANOVA de dos entradas para medidas repetidas que incluyó los cuatro grupos correspondientes a la solución de consumo. En los casos que se hallaron diferencias estadísticamente significativas se utilizó la prueba *post hoc* que mejor se ajustara al análisis, *Tukey o Sidák* y con ello conocer entre qué grupos se dio la diferencia.

Los datos que se obtuvieron del modelo de CTA de EtOH se analizaron con un ANOVA de dos entradas para medidas repetidas para determinar las diferencias entre el consumo de los sujetos en términos de medias y error estándar de las Kcal y gramos consumidos por cada grupo.

Para el análisis de los datos cotejados en las pruebas de la operante se buscaron diferencias significativas entre el número de respuestas y reforzadores obtenidos entre los cuatro grupos, para ello se optó por un ANOVA de dos entradas para medidas repetidas. En las tareas con costo de esfuerzo y demora se registró el número de respuestas e índice de preferencia de cada programa, datos que se expresaron en términos de medias y error estándar, para buscar diferencias significativas se usó un ANOVA de dos entradas para medidas repetidas y el análisis *post hoc* *Sidák* o *Tukey*. El índice de preferencia se obtuvo de dividir el número de respuestas emitidas para cada opción de reforzamiento entre el número de respuestas totales de la sesión, este parámetro se obtuvo para ambas tareas, con costo de esfuerzo y demora. En el caso de la tarea con costo de esfuerzo, además se evaluó la tasa de respuesta obtenida al dividir el número de respuestas emitidas por sesión entre los segundos de duración del ensayo. Los puntos de ruptura obtenidos por la equivalencia entre el número máximo de respuestas emitidas con la serie numérica de cada razón progresiva.

Con respecto a los datos obtenidos con la administración farmacológica en las tareas con costo de esfuerzo y demora, se registraron los mismos parámetros antes mencionados y se consideraron, además tres factores: los tratamientos farmacológicos, el tipo de reforzamiento (lineal/exponencial o inmediato/demorado) y el tipo de solución a la que fueron expuestos los sujetos; para ello se empleó un ANOVA de tres entradas. Todos los análisis estadísticos y gráficos se realizaron con el *software Graph Pad Prism®* versión 7 y la significancia de las diferencias se estableció con un $\alpha < .05$.

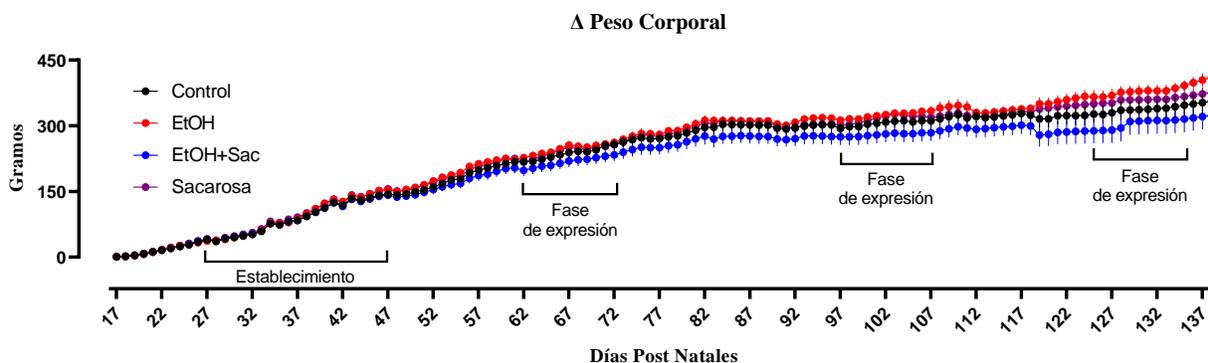
3. Resultados

3.1. Efectos del Acceso Intermitente al EtOH sobre el Peso Corporal y la Ingesta Calórica

Desde el día de arribo de los animales al bioterio y hasta el término del experimento se registró diariamente el peso corporal e ingesta de sólidos y líquidos, además se calculó la ganancia de peso corporal. Estos datos se analizaron con un ANOVA de dos entradas para medidas repetidas, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en términos de la ganancia de peso corporal (ver Figura 2). Esto indica que no se presentaron alteraciones en el desarrollo de los sujetos a pesar de las manipulaciones experimentales con respecto al modelo de CTA de EtOH ni al modelo impulsividad.

Figura 2

Ganancia de peso corporal

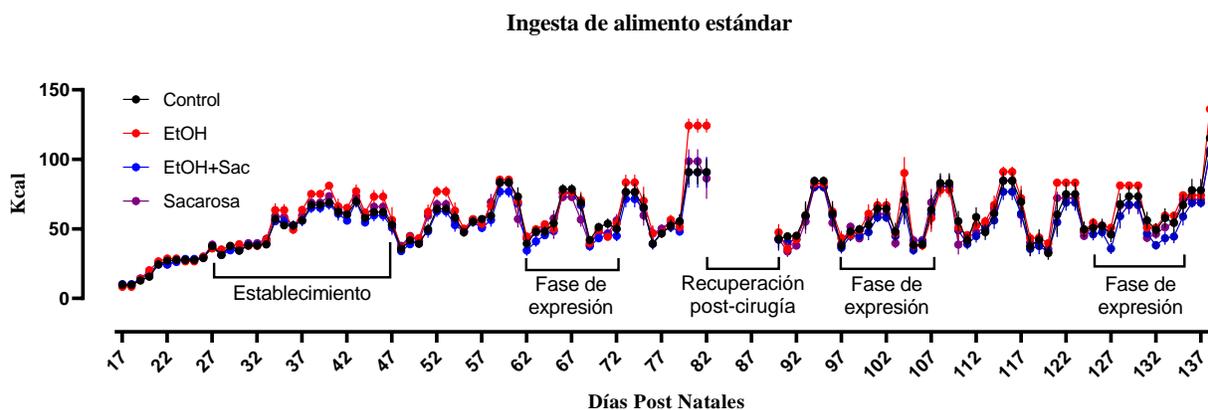


Nota: Se muestra la ganancia de peso corporal a lo largo del experimento y las fases del modelo de CTA de EtOH en corchetes, de los grupos control, etanol (EtOH), etanol con sacarosa (EtOH+sac) y sacarosa. Los datos están expresados en términos de medias y EEM., no se hallaron diferencias significativas; ns= no significativo (n=5).

El consumo de alimento estándar se mantuvo estable a lo largo del modelo, no hallamos diferencias estadísticamente significativas al analizarla como variable continua en un ANOVA de dos entradas para medidas repetidas (ver Figura 3), lo que sugiere que los patrones de consumo de la dieta estándar no se alteraron a pesar de los ciclos de privación para las mediciones conductuales y los episodios de atracón.

Figura 3

Ingesta de alimento estándar a lo largo del modelo



Nota: Se muestra la ingesta de alimento estándar a lo largo del modelo, en corchetes se acotan los periodos correspondientes a las fases de la CTA de EtOH del grupo control, etanol (EtOH), etanol con sacarosa (EtOH+sacarosa) y sacarosa. Los datos se expresan en términos de medias y error estándar (EEM) ns= no significativo (n=5).

Con respecto a la ingesta energética durante las sesiones de acceso a las soluciones en el modelo de CTA de EtOH, se empleó un ANOVA de dos entradas para medidas repetidas. En la fase de establecimiento calculada en gramos (ver Figura 4), el grupo EtOH incrementó

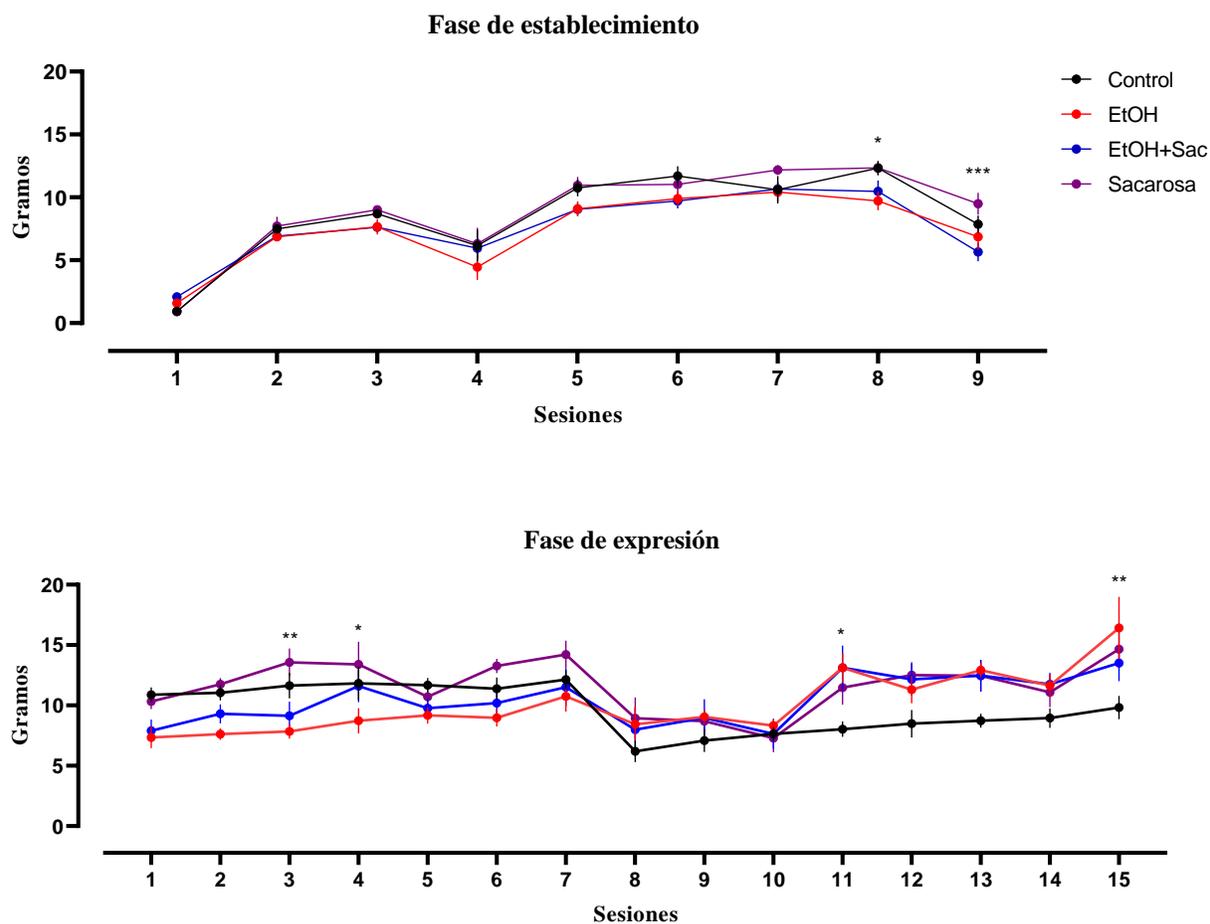
significativamente su ingesta en las últimas dos sesiones de esta fase con respecto al grupo sacarosa y el grupo EtOH+Sac mostró este efecto en la sesión 9 con respecto al grupo sacarosa.

Por su parte, en la fase de expresión (ver Figura 4), el grupo EtOH y EtOH+Sac mostraron un incremento significativo en la ingesta calculada en gramos con respecto al grupo sacarosa en las sesiones 3 y 4, mientras que en la sesión 11 los grupos EtOH y EtOH+Sac aumentaron significativamente su ingesta respecto al grupo control, y en la sesión 15 los grupos EtOH y sacarosa incrementaron significativamente su ingesta respecto al grupo control.

Sin embargo, al realizar el análisis de la ingesta energética de las soluciones calculada en Kcal, se halló que los grupos EtOH, EtOH+sacarosa y sacarosa consumieron significativamente más Kcal con respecto al grupo control [factor sesiones x factor solución $F_{(69, 1049)} = 6.763$; $p < .001$], en el caso de los grupos EtOH y EtOH+sacarosa la diferencia significativa se presentó desde la primera sesión del modelo de CTA (ver Figura 5).

Figura 4

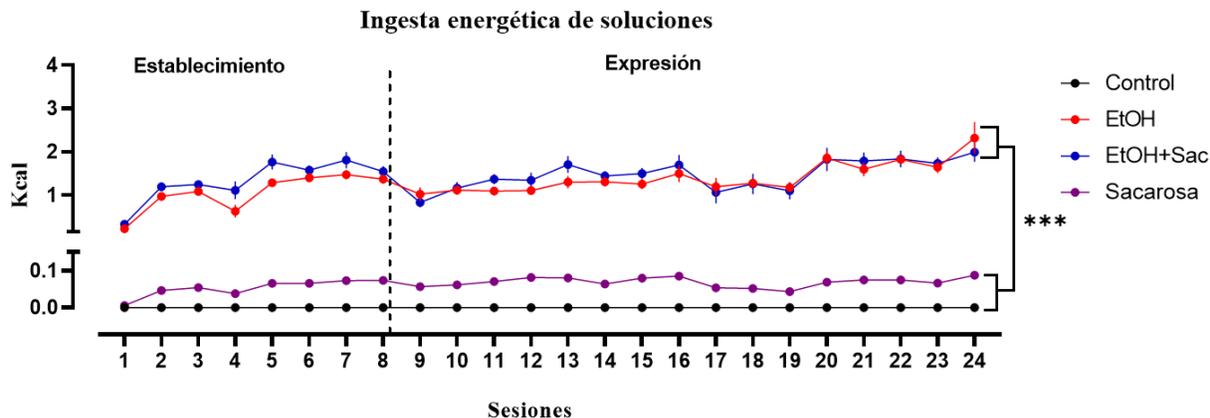
Ingesta durante las sesiones de acceso a las soluciones.



Nota: Se muestra la ingesta de las soluciones en las sesiones de acceso durante la fase de establecimiento (arriba) * $p < .05$ EtOH vs sacarosa; *** $p < .001$ EtOH+Sac vs sacarosa y la fase de expresión (abajo) del grupo control, etanol (EtOH), etanol con sacarosa (EtOH+sacarosa) y sacarosa. Los datos están expresados en términos de medias y error estándar (EEM.) * $p < .05$ control vs EtOH; control vs EtOH+Sac; control vs sacarosa, ** $p < .01$ control vs EtOH, (n=5).

Figura 5

Ingesta calórica durante las sesiones de acceso a las soluciones.



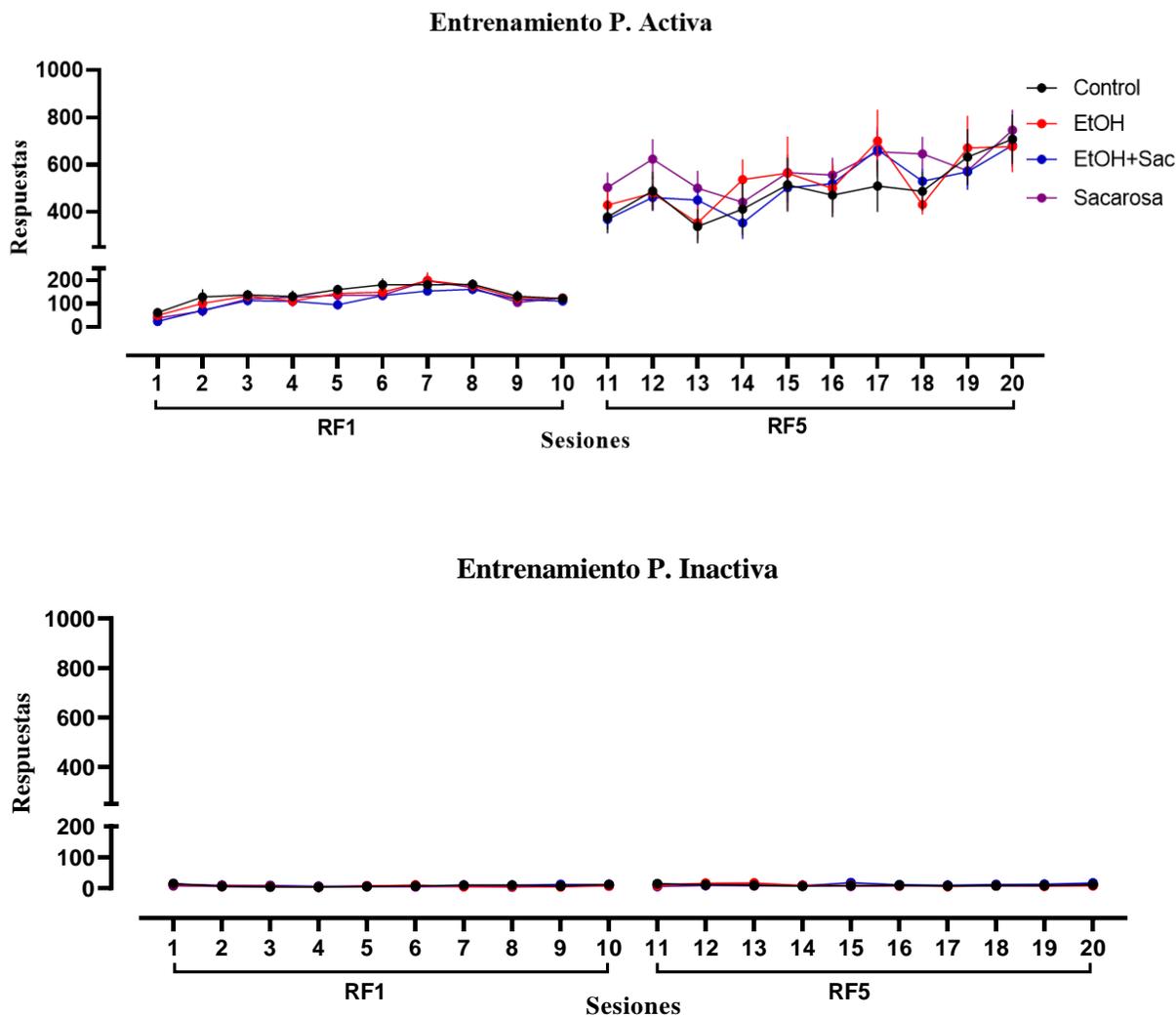
Nota: Se muestra la ingesta energética de las soluciones en las sesiones de acceso durante la fase de establecimiento y expresión del grupo control, etanol (EtOH), etanol con sacarosa (EtOH+sacarosa) y sacarosa. La línea vertical punteada representa el cambio entre las fases experimentales establecimiento y expresión. Los datos están expresados en términos de medias y error estándar (EEM.)
 *** $p < .001$ EtOH+Sac vs Ctrl; Sac vs Ctrl; EtOH vs Ctrl; Sac vs EtOH; Sac vs EtOH+Sac, (n=5).

3.2. Entrenamiento y Mantenimiento de la Operante en el modelo de CTA de EtOH

Los datos se analizaron con un ANOVA de dos entradas para medidas repetidas sin hallar diferencias significativas en el número de respuestas emitidas entre los grupos en la palanca activa. Tampoco se hallaron diferencias significativas en el número de respuestas emitidas en la palanca inactiva entre los grupos. Estos datos indican que los animales discriminaron homogéneamente entre grupos la palanca asociada al reforzador, se definió el aprendizaje asociativo en la tarea por el incremento en la frecuencia de la respuesta respecto a la palanca inactiva, además se calculó la estabilidad de la tasa de respuesta de la operante en las últimas 5 sesiones (ver Figura 6).

Figura 6

Respuestas emitidas en la palanca activa e inactiva de los programas en RF1 y RF5.



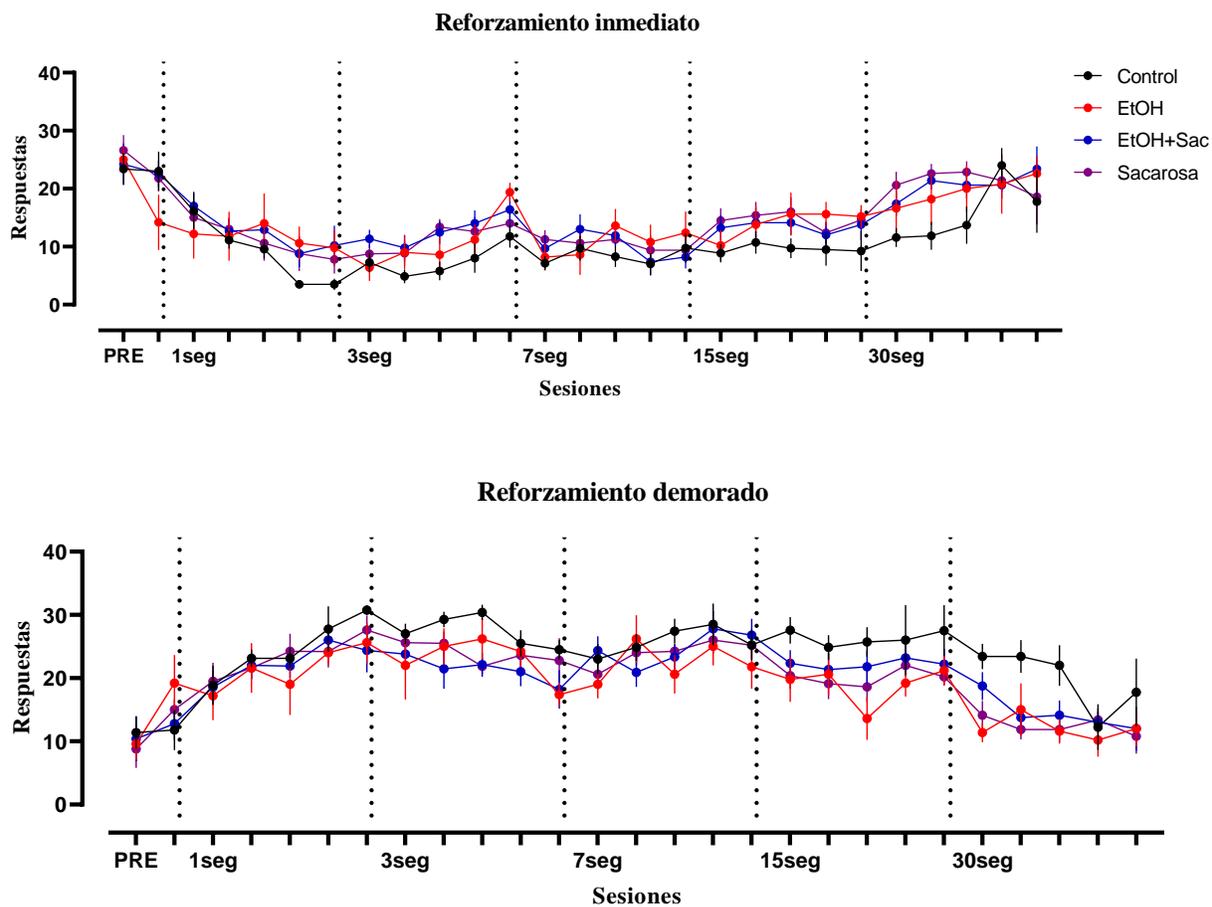
Nota: Se muestra la frecuencia de las respuestas emitidas en la palanca activa (arriba) en la fase de entrenamiento de los programas de razón fija 1 (RF1) y razón fija 5 (RF5) y la frecuencia de respuestas emitidas en la palanca inactiva (abajo) en las mismas condiciones de los grupos control, etanol (EtOH), etanol con sacarosa (EtOH+Sac) y sacarosa. Los datos están expresados en términos de medias y EEM., ns= no significativo (n=5).

3.3. Efectos del Acceso Intermitente de EtOH sobre la Toma de Decisiones con Costo de Demora

En la fase de entrenamiento se expuso a los animales al programa de reforzamiento demorado a cinco sesiones por requerimiento de demora (1, 3, 7, 15 y 30 segundos), con un total de 25 sesiones. Además, se expusieron a dos sesiones previas a la cirugía con un programa que incluía todos los requerimientos de demoras. Al analizar los datos en conjunto de las 25 sesiones de entrenamiento por cada opción de respuesta no se hallaron diferencias significativas en el número de respuestas por grupo para la opción de reforzamiento inmediato, ni tampoco en el número de respuestas para la opción de reforzamiento demorado (ver Figura 7).

Figura 7

Respuestas emitidas en la opción de reforzamiento inmediato y demorado durante el entrenamiento en el programa de reforzamiento demorado.

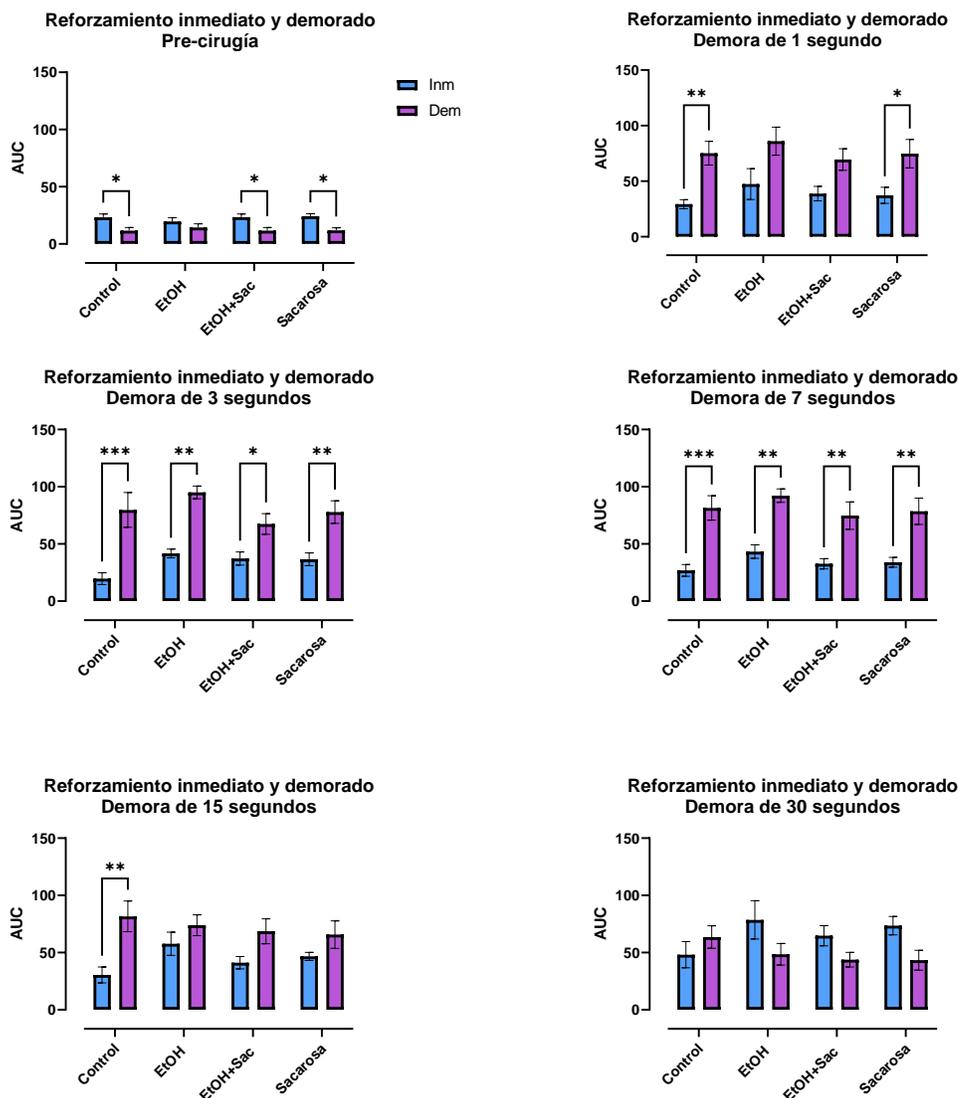


Nota: Se muestra la frecuencia de las respuestas emitidas en cada requerimiento de demora de la palanca asociada al patrón de reforzamiento inmediato durante la fase de entrenamiento (arriba) y la frecuencia de las respuestas emitidas para la opción de la palanca asociada al reforzamiento demorado (abajo) del grupo control, etanol (EtOH), etanol con sacarosa (EtOH+sacarosa) y sacarosa. Las líneas verticales punteadas representan los cambios en el requerimiento de demora entre sesiones. Los datos están expresados en términos de medias y EEM., no se hallaron diferencias significativas (n=5).

Se realizó el cálculo del Área Bajo la Curva (AUC) para cada requerimiento de demora con la finalidad de identificar las diferencias en la emisión de respuestas para cada opción de reforzamiento en las dos sesiones previas a la cirugía y las 25 subsecuentes, se realizó un ANOVA de dos entradas para medidas repetidas, con la prueba *post hoc* Šidák se encontró que en las dos sesiones previas a la cirugía los grupos control, EtOH+sacarosa y sacarosa emitieron mayor número de respuestas en la opción de reforzamiento inmediato [factor reforzamiento $F_{(1, 32)} = 26.16; p < .001$]. En las sesiones correspondientes a la demora de 1 segundo se encontró que los grupos control y sacarosa emitieron mayor número de respuestas en la opción de reforzamiento demorado [factor reforzamiento $F_{(1, 50)} = 29.25; p < .001$]. Para las sesiones con demora de 3 segundos se encontró que todos los grupos emitieron mayor número de respuestas en la opción de reforzamiento demorado [factor reforzamiento $F_{(1, 50)} = 54.61; p < .001$], en las sesiones con demora de 7 segundos todos los grupos emitieron más respuestas en la opción de reforzamiento demorado [factor reforzamiento $F_{(1, 50)} = 56.59; p < .001$]. En las sesiones de 15 segundos de demora, se encontró que únicamente el grupo control presenta un número de respuestas significativamente mayor por la opción de reforzamiento demorado [factor reforzamiento $F_{(1, 50)} = 17.10; p < .001$]. Por último, en las sesiones correspondientes a la demora de 30 segundos se halló diferencia estadísticamente significativa [factor reforzamiento $F_{(1, 48)} = 5.533; p = .023$] en el reforzamiento entre grupos, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas intra-grupos con el análisis post hoc (ver Figura 8).

Figura 8

Área Bajo la Curva de respuestas emitidas para ambas opciones de reforzamiento por cada demora, pre-cirugía y durante las sesiones de entrenamiento



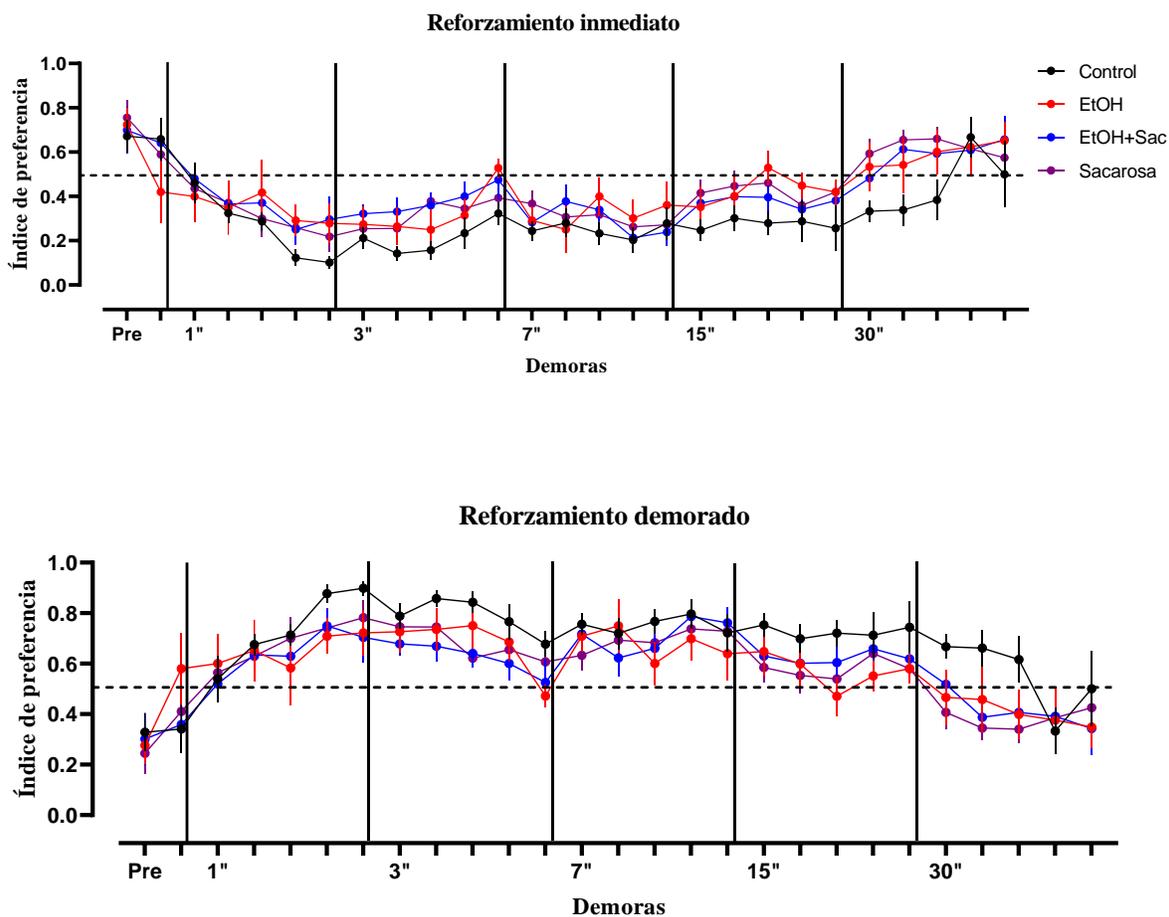
Nota: Se muestra el área bajo la curva calculada del número de respuestas emitidas para ambas opciones de reforzamiento inmediato (Inm) y demorado (Dem), en las dos sesiones previas a la cirugía estereotóxica (superior-izquierda), con requerimiento de demora de 1 segundo (superior-derecha), requerimiento de demora de 3 segundos (centroizquierda), requerimiento de demora de 7 segundos (centroderecha), requerimiento de demora de 15 segundos (inferior-izquierda) y requerimiento de

demora de 30 segundos (inferior-derecha). De los grupos control, etanol (EtOH), etanol con sacarosa (EtOH+Sac) y sacarosa. Los datos están expresados en términos de medias y EEM. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$ reforzamiento inmediato vs. demorado, (n=5).

Se calculó el índice de preferencia de elección de ambos patrones de reforzamiento, obtenido del número de respuestas de cada palanca entre el total de respuestas emitidas en la sesión. El ANOVA de dos entradas para medidas repetidas no arrojó diferencias significativas en la preferencia para la opción de reforzamiento inmediato en todos los grupos; tampoco se hallaron diferencias significativas en la opción de reforzamiento demorado con respecto a la preferencia de esta opción en todos los grupos (ver Figura 9). Lo que indica que el patrón de elección no es diferente cuando se evalúa en todo el experimento.

Figura 9

Índice de preferencia en la opción de reforzamiento inmediato y demorado durante el entrenamiento en el programa de reforzamiento demorado



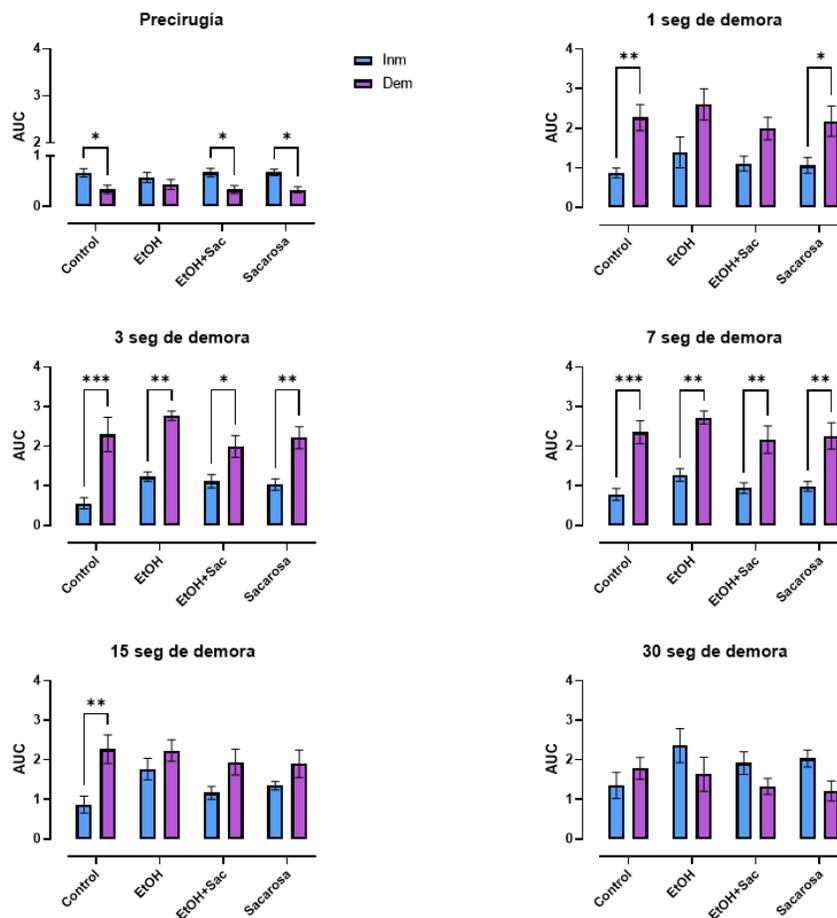
Nota: Se muestra el índice de preferencia en la opción de reforzamiento inmediato con todas las demoras durante las sesiones de entrenamiento (superior), se muestra el índice de preferencia en la opción de reforzamiento demorado con todas las demoras (inferior). Las líneas verticales representan los cambios en el requerimiento de demora entre sesiones. Los datos de ambas gráficas están expresados en términos de medias y EEM. No se encontraron diferencias significativas (n=5).

Sin embargo, al realizar un análisis de AUC para observar la preferencia por una u otra opción de reforzamiento por cada requerimiento de demora se encontró que, en el ANOVA de dos entradas para medidas repetidas en las dos sesiones previas a la cirugía, los grupos control, EtOH+sacarosa y sacarosa, tuvieron una preferencia mayor por la opción de reforzamiento inmediato con respecto al reforzamiento demorado [factor reforzamiento $F_{(1,32)} = 25.10$; $p < .001$]. En el requerimiento de demora de 1 segundo, los grupos control y sacarosa mostraron mayor preferencia por la opción de reforzamiento demorado con respecto al reforzamiento inmediato [factor reforzamiento $F_{(1,50)} = 30.59$; $p < .001$]; pero, cuando el requerimiento de demora aumenta a 3 segundos todos los grupos tuvieron una preferencia mayor por la opción de reforzamiento demorado que por el inmediato [factor reforzamiento $F_{(1,50)} = 50.53$; $p < .001$]; en el requerimiento de la demora de 7 segundos se muestra que todos los grupos mantuvieron una preferencia mayor por la opción de reforzamiento demorado [factor reforzamiento $F_{(1,50)} = 58.68$; $p < .001$]. En la demora de 15 segundos solo el grupo control mostró una preferencia mayor por la opción de reforzamiento demorado [factor reforzamiento $F_{(1,50)} = 6.25$; $p < .001$]. Por último, en la demora más grande de 30 segundos se halló diferencia en el reforzamiento entre grupos [factor reforzamiento $F_{(1,48)} = 4.179$; $p = .046$] sin embargo al realizar el análisis post hoc no se hallaron diferencias significativas intra-grupos (ver Figura 10).

Estos resultados indican que inicialmente la opción de reforzamiento demorado tuvo mayor preferencia en los grupos, debido que otorga mayor cantidad de reforzadores que la opción de reforzamiento inmediato, sin embargo, mientras aumentaba la demora para obtener los reforzadores, también cambió la preferencia por la opción de reforzamiento inmediato, debido a que la valoración costo-beneficio se invirtió.

Figura 10

Área Bajo la Curva del índice de preferencia para ambas opciones de reforzamiento por cada demora, pre-cirugía y durante las sesiones de entrenamiento



Nota: Se muestra el área bajo la curva del índice de preferencia para las opciones de reforzamiento inmediato (Inm) y demorado (Dem) en las dos sesiones previas a la cirugía estereotáxica (superior-izquierda), en las sesiones con demora de 1 segundo (superior-derecha), en las sesiones con demora de 3 segundos (centroizquierda), en las sesiones con demora de 7 segundos (centro-derecha), en las sesiones con demora de 15 segundos (inferior-izquierda) y en las sesiones con demora de 30 segundos (inferior-derecha). Los datos están expresados en términos de medias y EEM. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$ reforzamiento inmediato vs. demorado, (n=5).

El índice de preferencia fue determinado en todos los grupos a lo largo de todo el experimento en la progresión de las fases de demora, el objetivo de este análisis fue identificar los cambios de preferencia en las opciones de reforzamiento. El ANOVA de dos entradas para medidas repetidas nos permitió determinar que el grupo control en la sesión 1 no discriminó entre los reforzadores de los programas; sin embargo, a partir de la sesión 2 y hasta la 22 tuvieron significativamente mayor preferencia por la opción de reforzamiento demorado [factor sesiones x factor reforzamiento $F_{(26, 240)} = 9.780; p < .001$], hasta que el requerimiento de respuesta estuvo en la demora de 30s los animales cambiaron de elección en la sesión 24 por el reforzamiento inmediato y en la sesión 25 estuvieron nuevamente en un punto de indecisión semejante al de la sesión 1 (ver Figura 11).

En el grupo de EtOH encontramos que retardaron la discriminación del beneficio en el programa de reforzamiento demorado en el requerimiento de 1s, estableciendo su elección por esta opción hasta la sesión 4 y 5, misma que se mantuvo hasta la sesión 8 que correspondió a la demora de 3s [factor sesiones x factor reforzamiento $F_{(26, 208)} = 5.939; p < .001$], en la fase de la demora de 7s en la sesión 11 y 12 los animales prefirieron el reforzamiento demorado [factor sesiones x factor reforzamiento $F_{(24, 192)} = 5.028; p < .05$]. A partir de ese momento y hasta finalizado el experimento no volvieron a establecer una elección estadísticamente significativa, sin embargo, observamos una tendencia a cambiar de elección por el reforzamiento inmediato en las sesiones 10, 18 y de la 22 hasta la 25 (ver Figura 11).

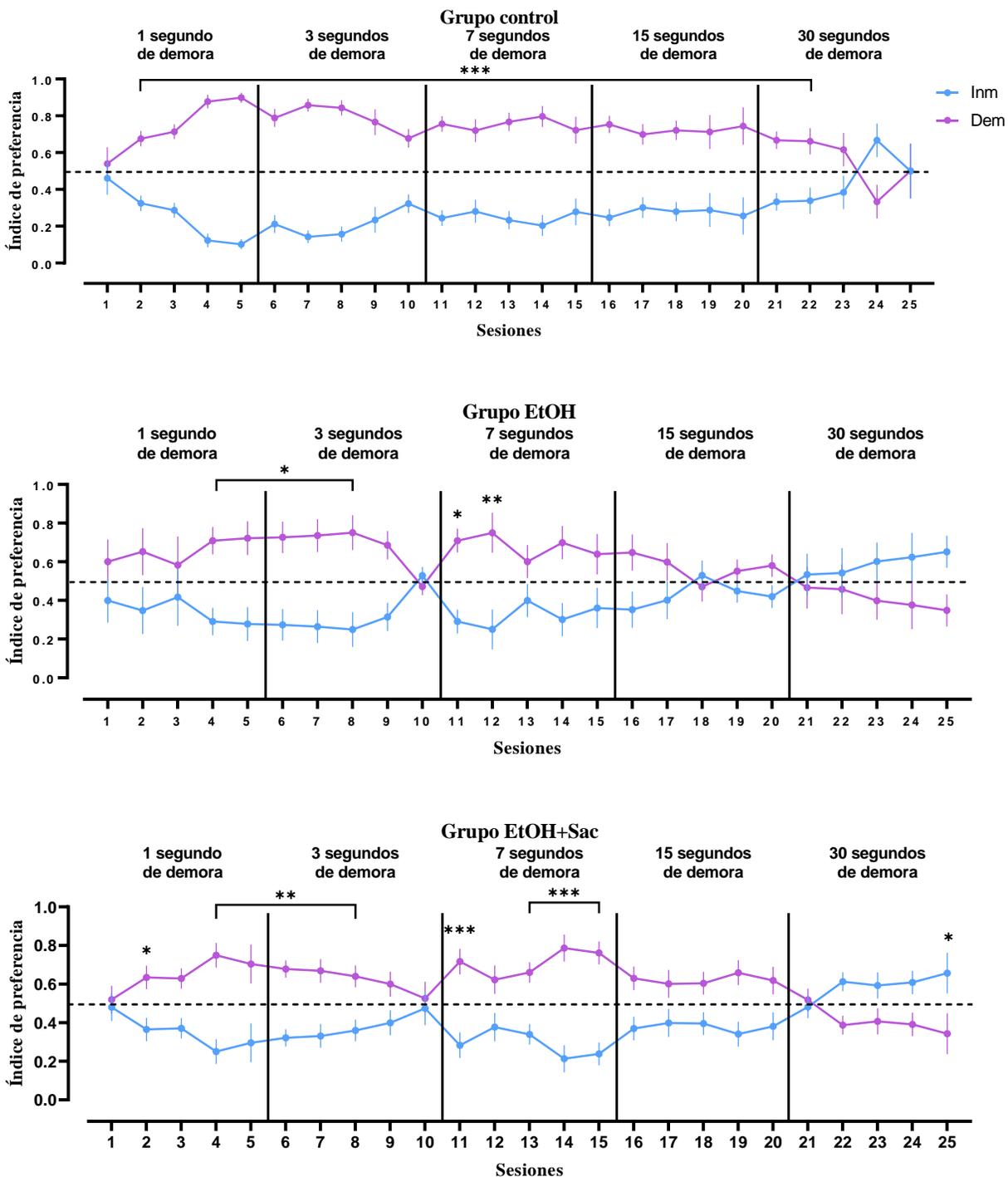
El grupo EtOH+sacarosa, semejante al grupo control, estableció la preferencia por el reforzamiento demorado en la sesión 2 [factor sesiones x factor reforzamiento $F_{(24, 298)} = 9.208; p < .05$] y a partir de la sesión 4 esta preferencia por el reforzamiento demorado es estable hasta la sesión 8 [factor sesiones x factor reforzamiento $F_{(26, 314)} = 11.20; p < .001$] que correspondió al

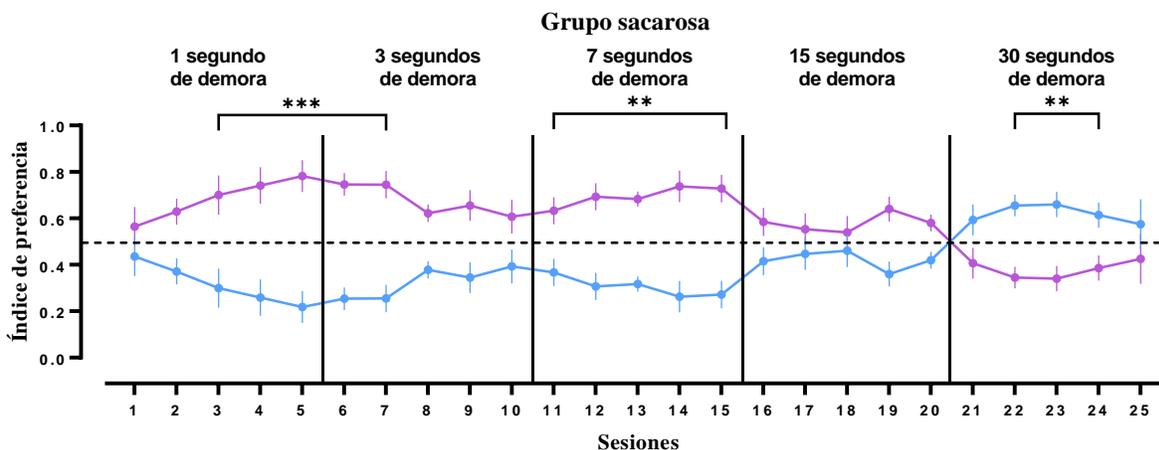
programa de demora de 3s; en la fase de demora de 7s, establecieron preferencia por el reforzamiento demorado en todas las sesiones [factor sesiones x factor reforzamiento $F_{(26, 292)} = 15.95; p < .001$], excepto en la sesión 12. En la fase de 15s no se establece preferencia significativa, sino hasta la sesión 25 correspondiente a la demora de 30s [factor sesiones x factor reforzamiento $F_{(1, 16)} = 9.794; p < .05$] se invierte la elección por el reforzamiento inmediato (ver Figura 11).

Finalmente, el grupo Sacarosa establece la preferencia por el reforzamiento demorada en la sesión 3 y hasta la sesión 7 correspondiente a la demora de 3s [factor sesiones x factor reforzamiento $F_{(24, 276)} = 12.81; p < .001$], sorpresivamente, en la demora de 7s en todas las sesiones se establece la preferencia por el reforzamiento demorado, y es en la fase de demora de 30s donde se invierte significativamente [factor reforzamiento $F_{(1, 14)} = 9.172; p < .05$] la preferencia por el reforzamiento inmediato en las sesiones 22-24 (ver Figura 11).

Figura 11

Índice de preferencia por cada grupo durante el entrenamiento en el programa de reforzamiento demorado





Nota: Se muestra el índice de preferencia para el reforzamiento inmediato (Inm) y demorado (Dem) en todas las demoras durante las sesiones de entrenamiento en el grupo control (primer extracto), grupo EtOH (segundo extracto), grupo EtOH+sacarosa (tercer extracto) y grupo Sacarosa (cuarto extracto). Las líneas verticales representan los cambios en el requerimiento de demora entre sesiones. Los datos están expresados en términos de medias y EEM. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$ reforzamiento inmediato vs demorado, (n=5).

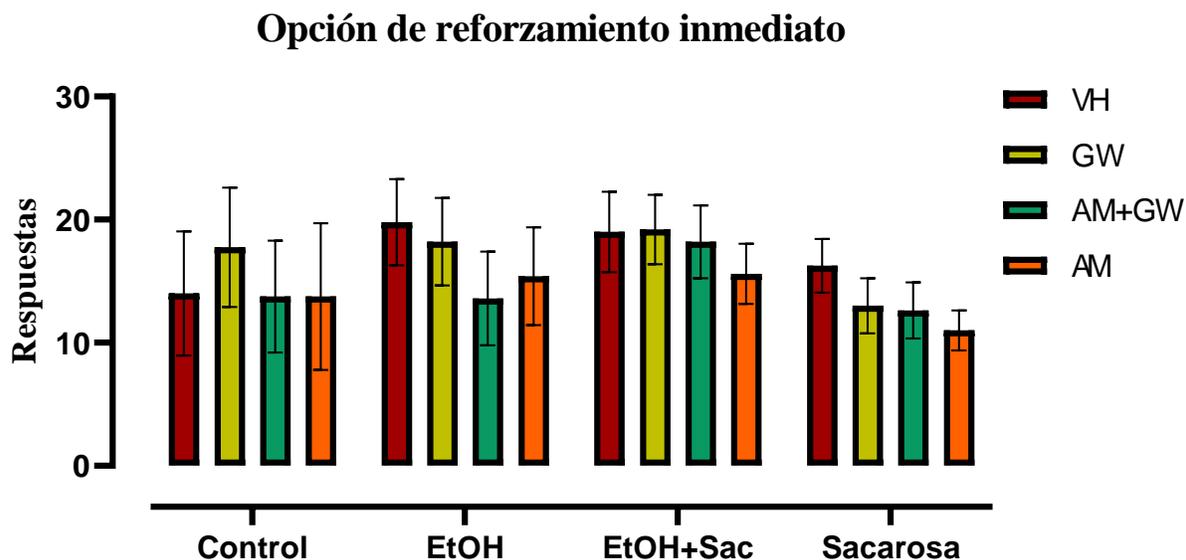
Estos datos muestran que los grupos que recibieron EtOH y/o sacarosa retardaron el establecimiento de la preferencia por el reforzamiento demorado que daba la mayor recompensa en la fase de demora 1. En el caso de las demoras 3, 7 y 15 donde se aumenta el requerimiento de demora, el reforzamiento demorado sigue teniendo el mayor beneficio en la tarea y son los grupos que recibieron EtOH y/o sacarosa los que fluctuaron en el establecimiento de su preferencia. El dato más importante de este análisis lo hallamos en la fase de demora de 30s donde observamos la tolerancia de los animales para enfrentar la mayor demora y en todos los grupos que recibieron EtOH y/o sacarosa muestran una tendencia a cambiar su preferencia por el reforzamiento inmediato, como es el caso del grupo sacarosa que desde la sesión 22 y hasta la 24 establecen preferencia por la opción inmediata a diferencia del grupo control que tiene una tendencia a mantener preferencia por el reforzamiento demorado.

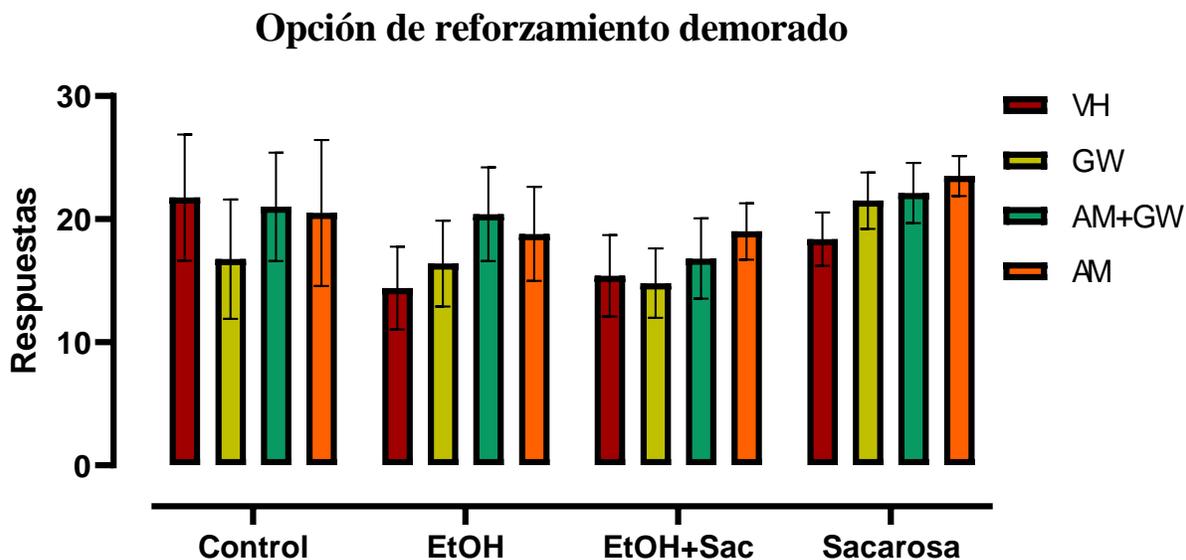
3.4. Participación de los rCB2 de la CCA en la Toma de Decisiones con Costo de Demora

Al analizar la participación de los rCB2 en la toma de decisiones con costo de demora, en ambas opciones de reforzamiento no se hallaron cambios estadísticamente significativos ni intra grupos ni entre grupos (ver Figura 12).

Figura 12

Respuestas emitidas en la opción de reforzamiento inmediato y demorado con los tratamientos farmacológicos en el programa de reforzamiento demorado



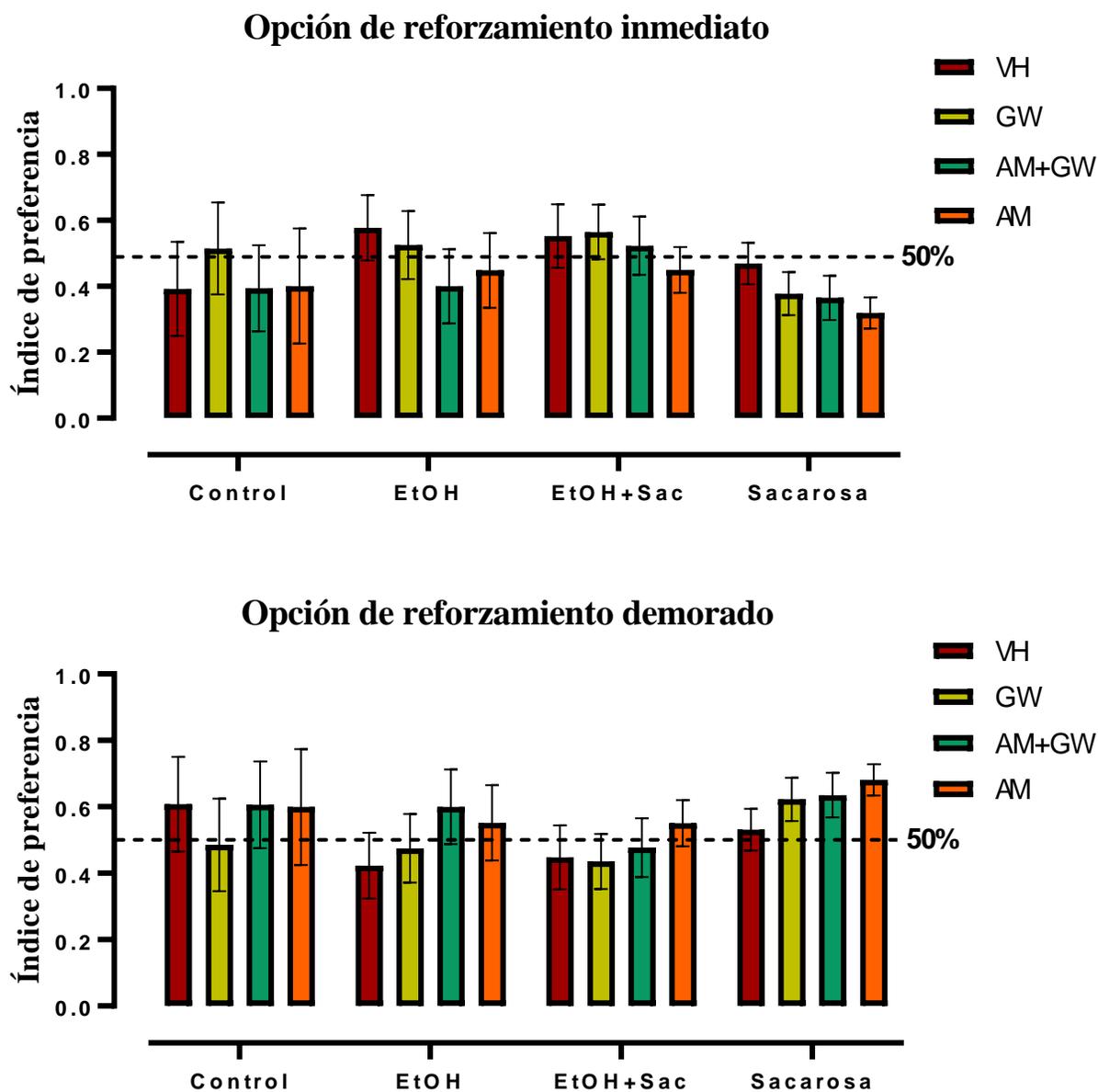


Nota: Se muestra el número de respuestas emitidas en la opción de reforzamiento inmediato (superior) y en la opción de reforzamiento demorado (inferior) con los tratamientos farmacológicos en la condición vehículo (VH), el agonista GW405833 (GW), co-tratamiento con antagonista AM630 y el agonista GW405833 (AM+GW) y antagonista AM630 (AM) durante la prueba con el programa de reforzamiento demorado, en los grupos control, etanol (EtOH), etanol con sacarosa (EtOH+Sac) y sacarosa. Los están expresados en términos de medias y EEM. No se encontraron diferencias significativas, (n=5).

En el análisis estadístico del índice de preferencia para cada una de las opciones de reforzamiento en la tarea con costo de demora, usando el ANOVA de dos entradas, no se hallaron diferencias significativas intra grupos o entre grupos (ver Figura 13).

Figura 13

Índice de preferencia en la opción de reforzamiento inmediato y demorado con los tratamientos farmacológicos en el programa de reforzamiento demorado



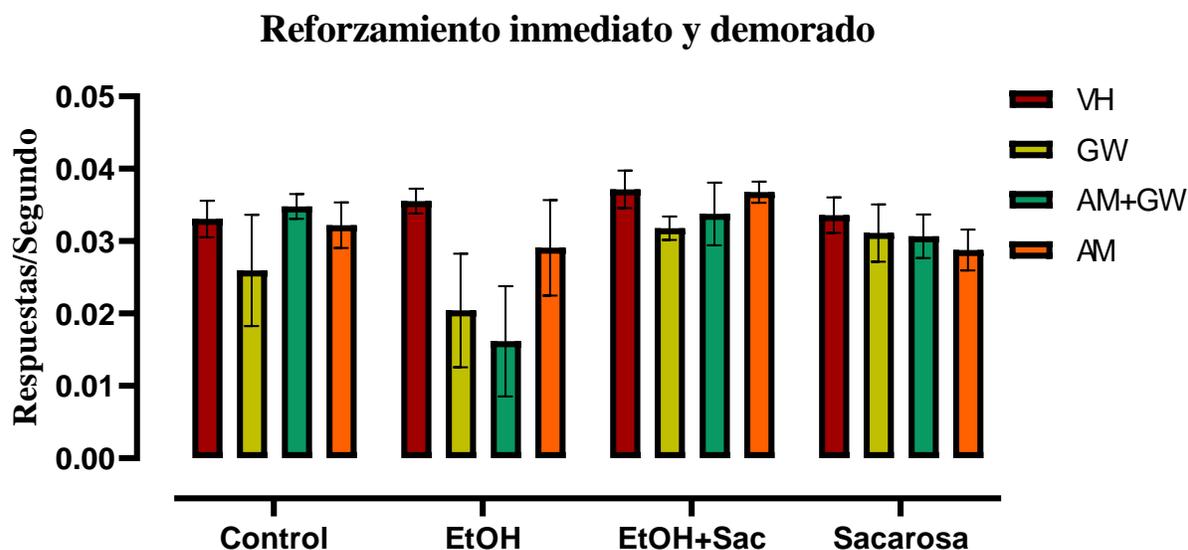
Nota: Se muestra el índice de preferencia en la opción de reforzamiento inmediato (superior) y en la opción de reforzamiento demorado (inferior) con los tratamientos farmacológicos en la condición vehículo (VH), el agonista GW405833 (GW), co-tratamiento con antagonista AM630 y el agonista

GW405833 (AM+GW) y antagonista AM630 (AM), en los grupos control, etanol (EtOH), etanol con sacarosa (EtOH+Sac) y sacarosa, durante la prueba con el programa de reforzamiento demorado. Los datos de ambas gráficas están expresados en términos de medias y EEM. No se encontraron diferencias significativas, (n=5).

En cuanto al análisis de la tasa de respuesta de ambas opciones de reforzamiento, con el ANOVA de dos entradas, tampoco se encontraron diferencias significativas intra grupos o entre grupos (ver Figura 14).

Figura 14

Tasa de respuesta en la opción de reforzamiento inmediato y demorado con los tratamientos farmacológicos en el programa de reforzamiento demorado



Nota: Se muestra la tasa de respuesta de ambas opciones de reforzamiento con los tratamientos farmacológicos en la condición vehículo (VH), el agonista GW405833 (GW), co-tratamiento con antagonista AM630 y el agonista GW405833 (AM+GW) y antagonista AM630 (AM), en los grupos

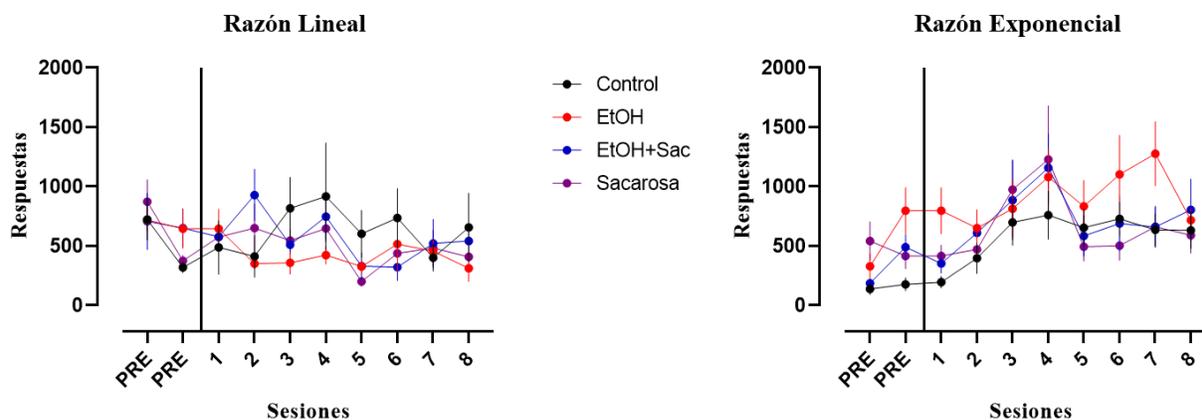
control, etanol (EtOH), etanol con sacarosa (EtOH+Sac) y sacarosa, durante la prueba con el programa de reforzamiento demorado. Los datos están expresados en términos de medias y EEM. No se encontraron diferencias significativas, (n=5).

3.5. Efectos del Acceso Intermitente al EtOH sobre la Toma de Decisiones con Costo de Esfuerzo

Para los datos obtenidos en la tarea con costo de esfuerzo, se empleó un ANOVA de dos entradas para medidas repetidas. No se hallaron modificaciones significativas en el número de respuestas emitidas para la opción asociada a la razón lineal, ni en las respuestas emitidas en la opción asociada a la razón exponencial (ver Figura 15).

Figura 15

Respuestas emitidas en la opción asociada a la razón lineal y exponencial durante la pre-cirugía y el entrenamiento en el programa de reforzamiento concurrente



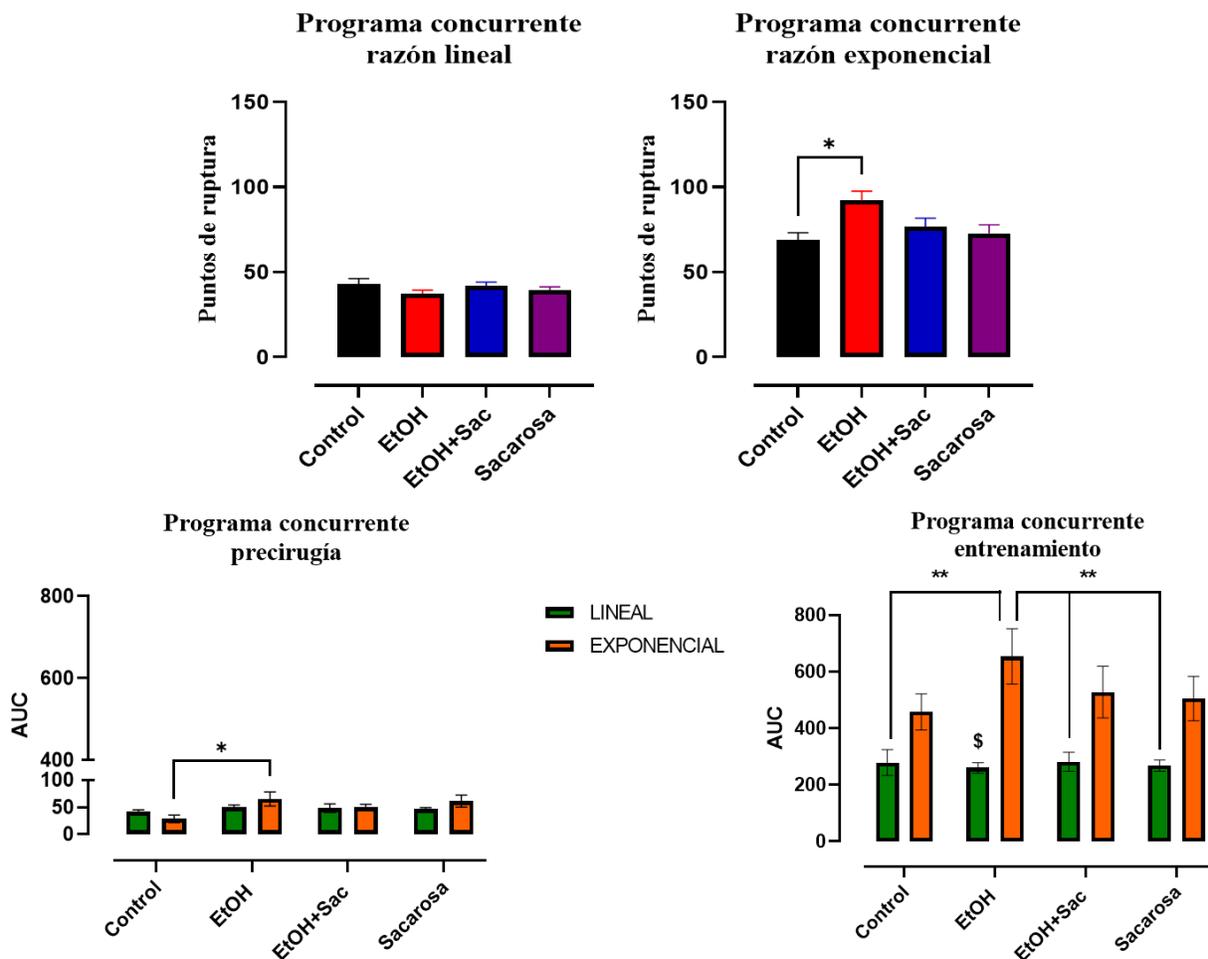
Nota: Se muestra el número de respuestas emitidas para la opción de reforzamiento con razón lineal (izquierda) y la opción con razón exponencial (derecha) durante la fase de entrenamiento del programa concurrente. De los grupos control, etanol (EtOH), etanol con sacarosa (EtOH+Sac) y sacarosa. Las

líneas verticales representan el cambio entre las sesiones precirugía y las sesiones de entrenamiento. Los datos están expresados en términos de medias y EEM., no se hallaron diferencias significativas, (n=5).

En el análisis de los puntos de ruptura no se encontraron diferencias significativas para la opción de razón lineal en ninguno de los grupos, sin embargo, en la opción de razón exponencial con el ANOVA de dos entradas para medidas repetidas [factor solución $F_{(3, 228)} = 3.228; p < .05$] se realizó una prueba *post-hoc Tukey* hallando que el grupo EtOH presentó un incremento significativo en los puntos de ruptura con respecto al grupo control ($p < .05$). También se realizó un análisis de AUC de los puntos de ruptura para ambas opciones de reforzamiento, se encontró que con el ANOVA de dos entradas [factor reforzamiento $F_{(1, 52)} = 33.49; p < .001$] en la prueba *post-hoc Tukey* el grupo EtOH tuvo puntos de ruptura significativamente más altos ($p < .05$) que los demás grupos e intra grupo en la opción con la razón lineal (ver Figura 16).

Figura 16

Puntos de ruptura y Área Bajo la Curva en la opción asociada a la razón lineal y exponencial durante la pre-cirugía y el entrenamiento en el programa de reforzamiento concurrente



Nota: Se muestran los puntos de ruptura para la opción de reforzamiento con razón lineal (superior-izquierda) y con la opción de razón exponencial (superior-derecha) durante la fase de entrenamiento y el área bajo la curva de los puntos de ruptura en las sesiones pre-cirugía (inferior-izquierda) y en las sesiones de entrenamiento (inferior-derecha), los grupos control, etanol (EtOH), etanol con sacarosa (EtOH+Sac) y sacarosa. Los datos están expresados en términos de medias y EEM. * $p < .05$; EtOH vs. control; EtOH-exponencial vs. control-exponencial; \$ $p < .05$; EtOH-lineal vs- EtOH-exponencial,

** $p < .01$ razón lineal vs. exponencial; control-lineal vs. EtOH-exponencial; EtOH-exponencial vs. EtOH+Sac-lineal; EtOH-exponencial vs. sacarosa-lineal, (n=5).

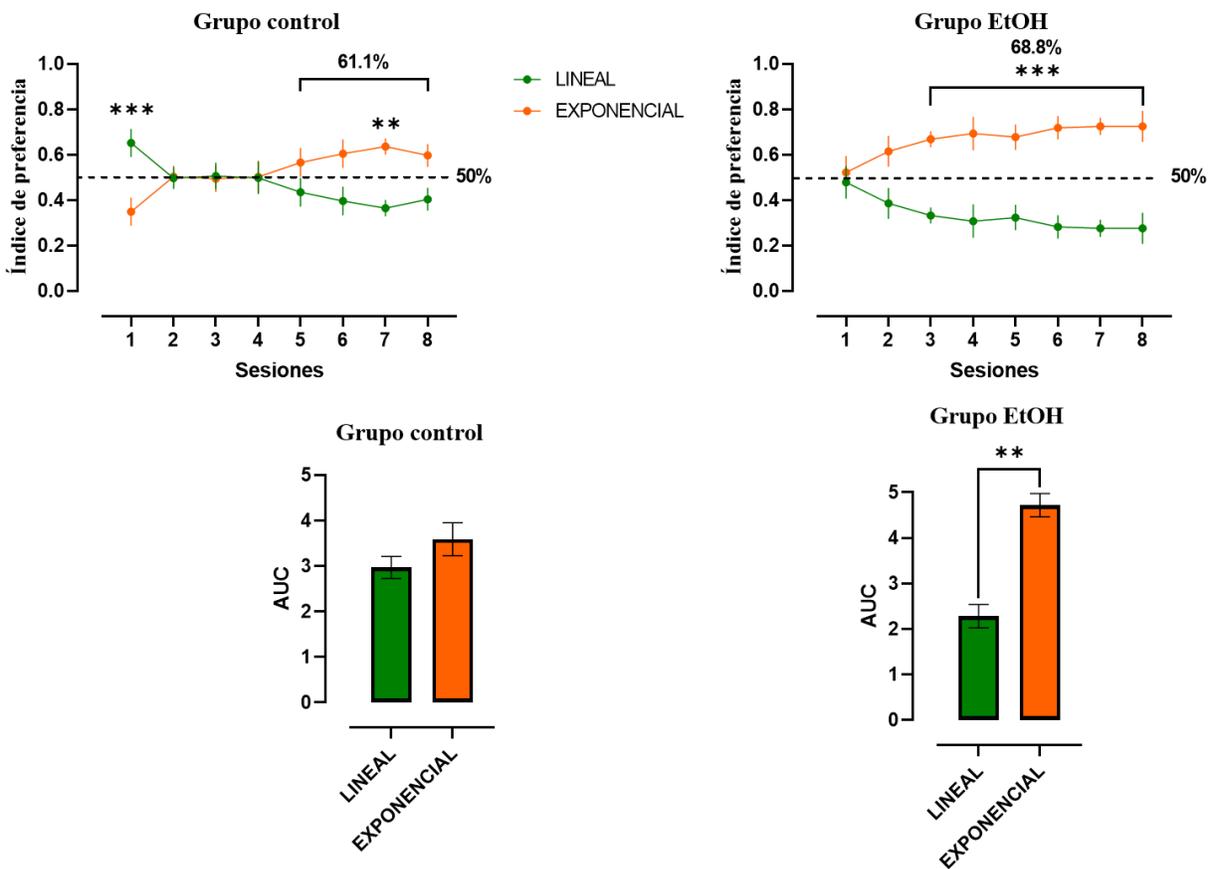
En el análisis del índice de preferencia para cada grupo con ambas opciones de reforzamiento con el ANOVA de dos entradas para medidas repetidas [factor reforzamiento $F_{(1, 12)} = 171.7; p < .001$] se halló que el grupo EtOH presentó un incremento significativo en la preferencia por la opción con la razón exponencial y con la prueba *post hoc* *Sidak* se determinó que esta diferencia se presentó desde la sesión 3 hasta la 8 ($p < .001$).

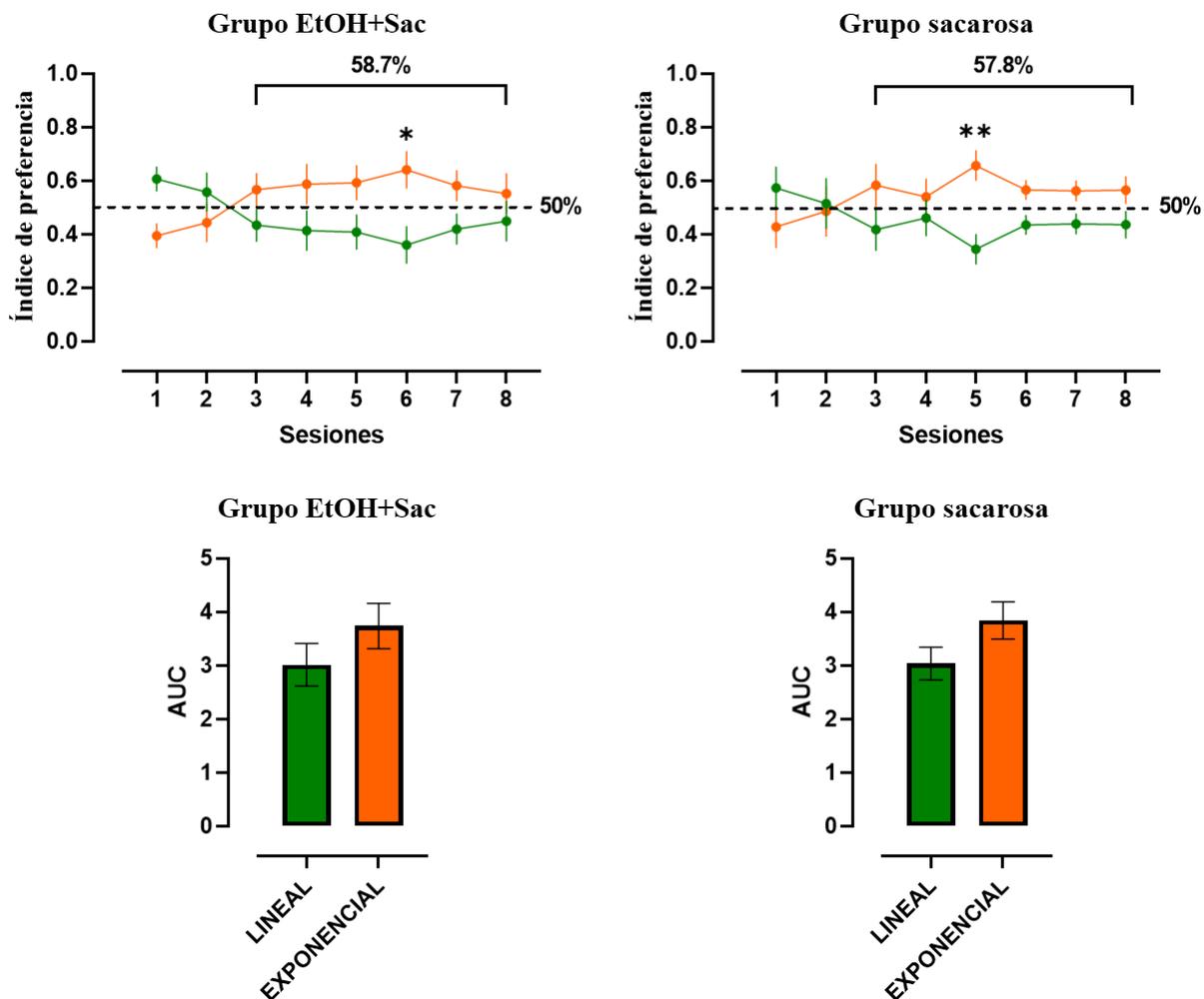
El grupo control únicamente mostró una preferencia significativa por la opción de reforzamiento lineal en la sesión 1 ($p < .001$) y por la opción de reforzamiento exponencial en la sesión 7 ($p < .01$), mientras que en el grupo EtOH+Sac sólo se halló una preferencia significativamente mayor ($p < .05$) por la opción de reforzamiento exponencial en la sesión 6. En el grupo sacarosa solo se halló una preferencia significativamente mayor en la sesión 5 ($p < .01$) por la opción de reforzamiento exponencial.

En el AUC del índice de preferencia con la prueba *t-Student* se confirmó el efecto en el incremento en la preferencia por el reforzamiento exponencial en el grupo EtOH [$t = 4.737, df = 4; p = .009$] (ver Figura 17).

Figura 17

Índice de preferencia y Área Bajo la Curva durante el entrenamiento en el programa de reforzamiento concurrente





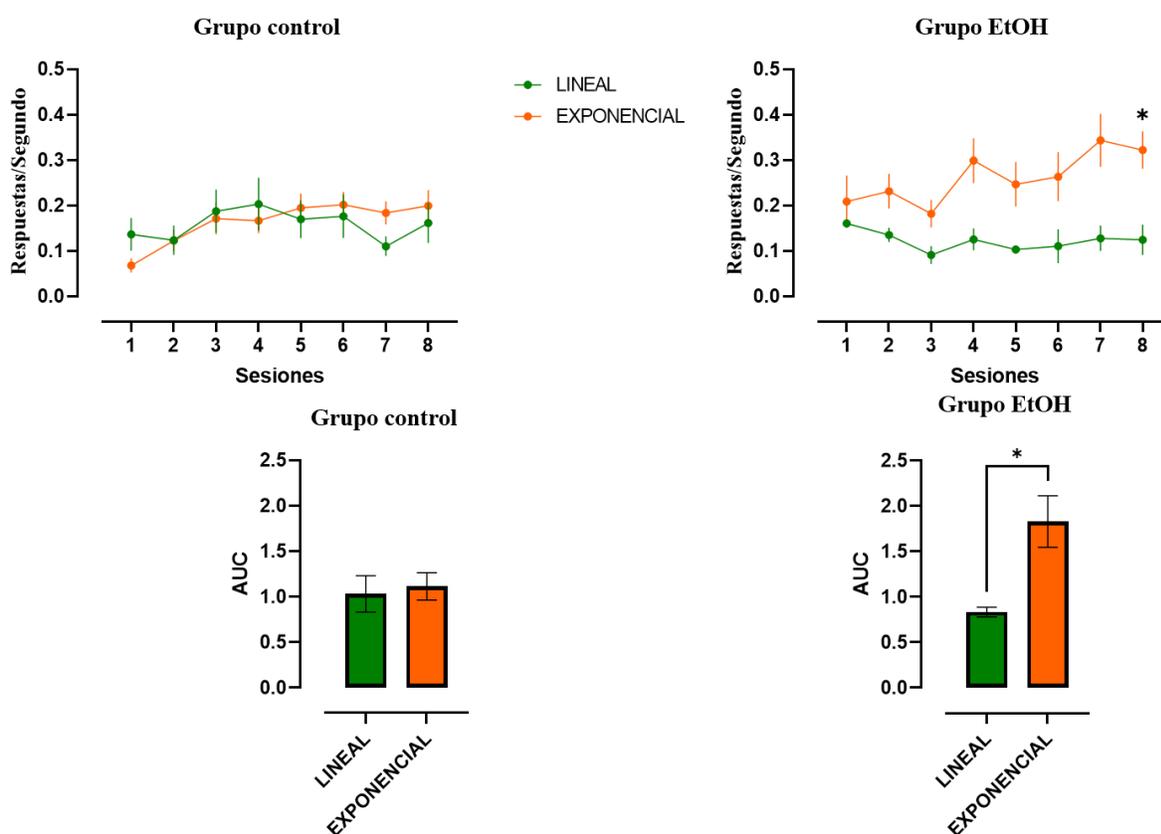
Nota: Se muestra el índice de preferencia y el área bajo la curva de este parámetro para cada grupo durante las sesiones pre-cirugía y el entrenamiento. En el panel superior izquierdo se muestra el índice de preferencia y área bajo la curva del grupo Control, en el panel superior derecho el grupo EtOH, en el panel inferior izquierdo el grupo EtOH+Sacarosa y en el panel inferior derecho el grupo Sacarosa. En barras verdes se representa la opción con la razón lineal y en barras naranjas la opción con la razón exponencial. Los datos están expresados en términos de medias y EEM. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$, razón lineal vs. exponencial ($n=5$).

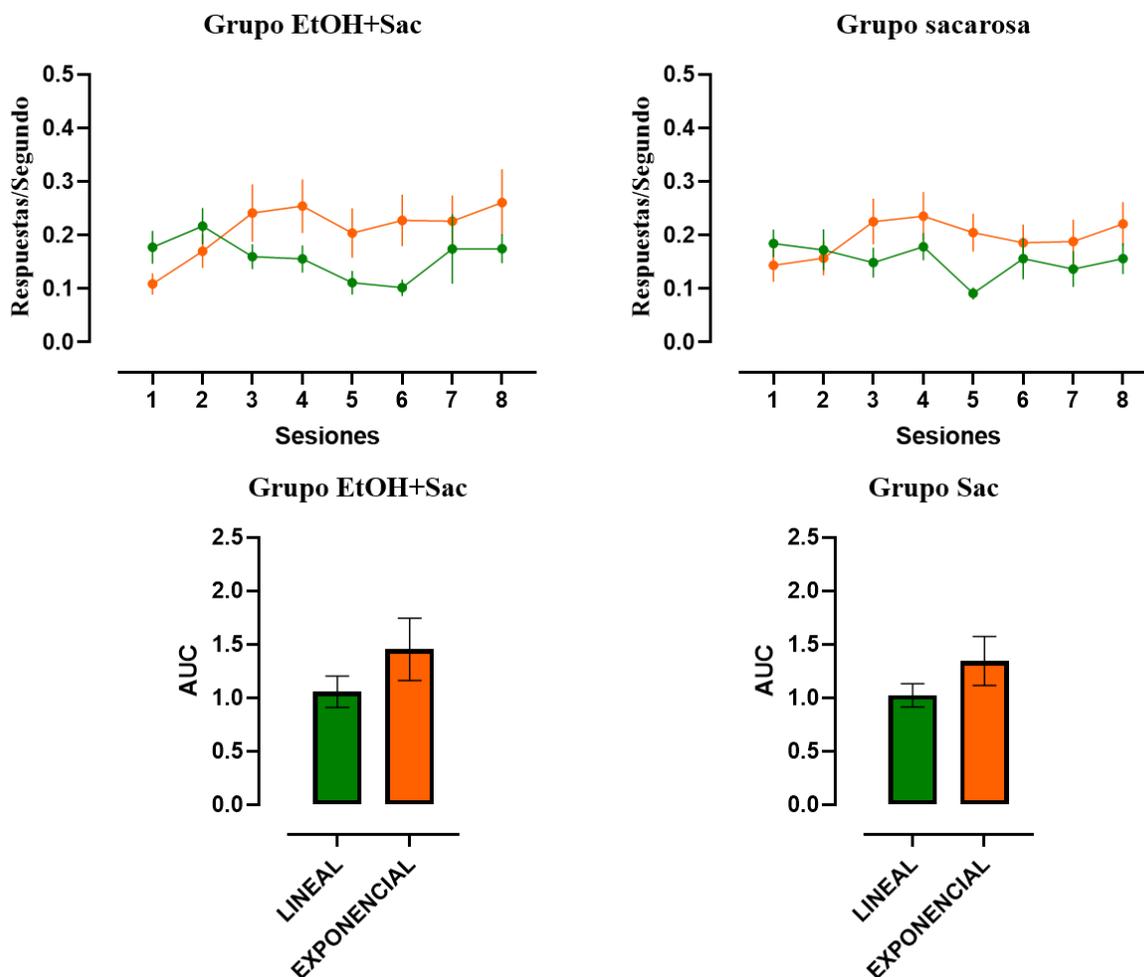
Por último, con el ANOVA de dos vías para medidas repetidas se halló que la tasa de respuesta de la tarea con costo de esfuerzo difirió significativamente en el grupo EtOH en la

elección del programa de reforzamiento [factor reforzamiento $F_{(1, 8)} = 11.79$; $p = .0089$] con la prueba *post hoc* *Sidak* se determinó un incremento significativo ($p < .05$) en la sesión 8, al realizar el análisis del AUC para conocer el tamaño del efecto, se compararon con la prueba *t-Student* hallando mayor elección en el programa de reforzamiento exponencial [$t = 3.635$, $df = 4$; $p = .022$]. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en los grupos restantes para las elecciones de reforzamiento (ver Figura 18).

Figura 18

Tasa de respuesta y Área Bajo la Curva durante el entrenamiento en el programa de reforzamiento concurrente





Nota: Se muestra la tasa de respuesta y el área bajo la curva de este parámetro para cada grupo durante las sesiones de entrenamiento. En el panel superior izquierdo se muestra la tasa de respuesta y área bajo la curva del grupo Control, en el panel superior derecho el grupo EtOH, en el panel inferior izquierdo el grupo EtOH+Sacarosa y en el panel inferior derecho el grupo Sacarosa. En barras verdes se representa la opción con la razón lineal y en barras naranjas la opción con la razón exponencial. Los datos están expresados en términos de medias y EEM. * $p < .05$, razón lineal vs. exponencial ($n=5$).

3.6. Participación de los rCB2 de la CCA en la Toma de Decisiones con Costo de Esfuerzo

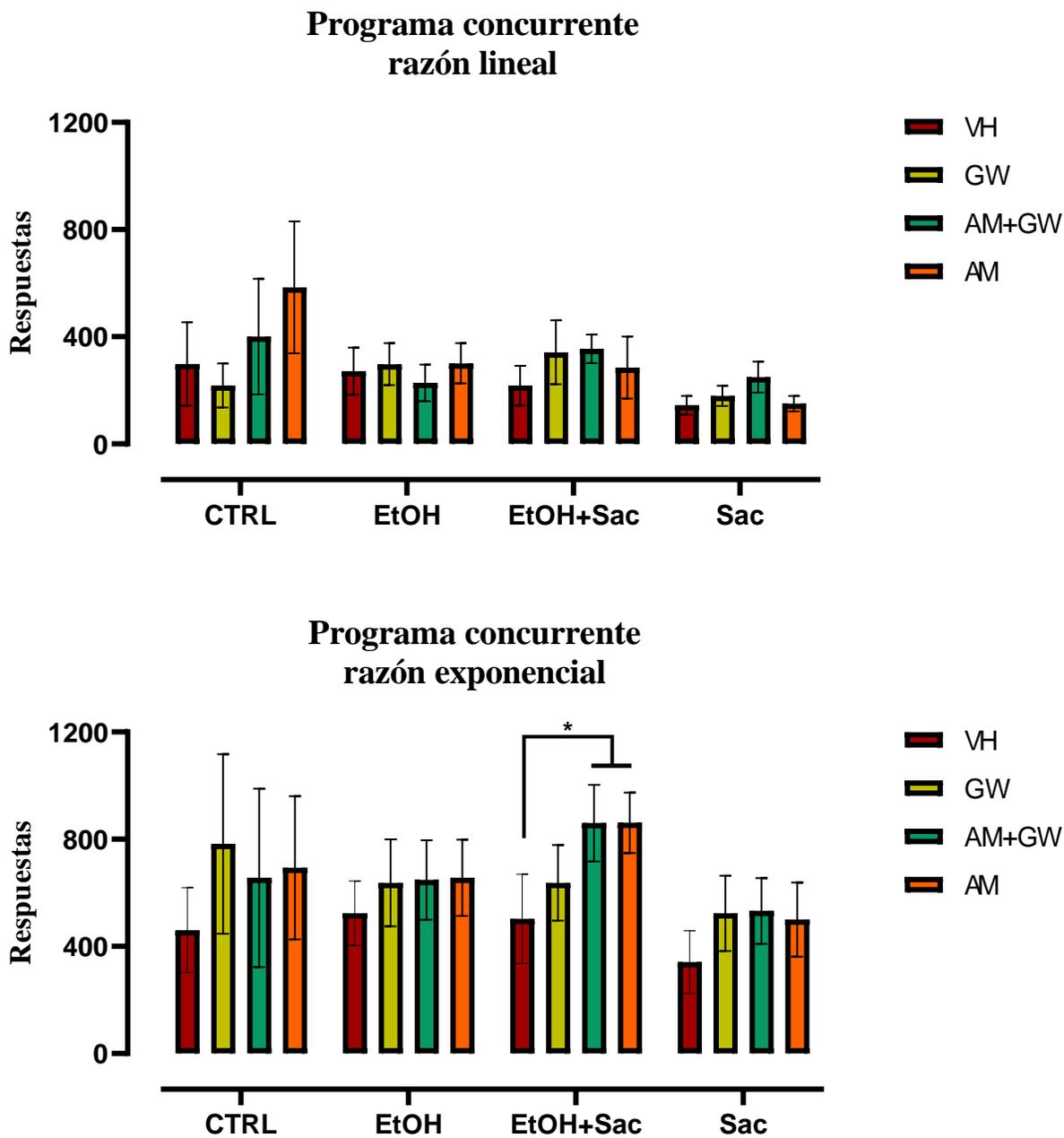
Se empleó un ANOVA de dos entradas para medidas repetidas con la finalidad de determinar si los rCB2 participan en la toma de decisiones en una tarea con costo de esfuerzo, se

evaluaron diferentes parámetros como las respuestas emitidas, puntos de ruptura, índice de preferencia y tasa de respuesta en ambas opciones de reforzamiento: lineal y exponencial.

En la emisión de respuestas en la opción asociada a la razón lineal no se hallaron diferencias significativas entre los grupos con ninguna de las condiciones farmacológicas. Sin embargo, en la opción con la razón exponencial se encontró diferencias significativas [factor tratamiento farmacológico $F_{(3, 21)} = 4.333$; $p = .016$], con la prueba *post-hoc Tukey* se determinó un incremento significativo ($p < .05$) en el número de respuestas emitidas para esta opción con la administración intra-CCA del antagonista AM630 y el co-tratamiento (antagonista + agonista) (ver Figura 19).

Figura 19

Respuestas emitidas en la opción asociada a la razón lineal y exponencial con los tratamientos farmacológicos en el programa de reforzamiento concurrente



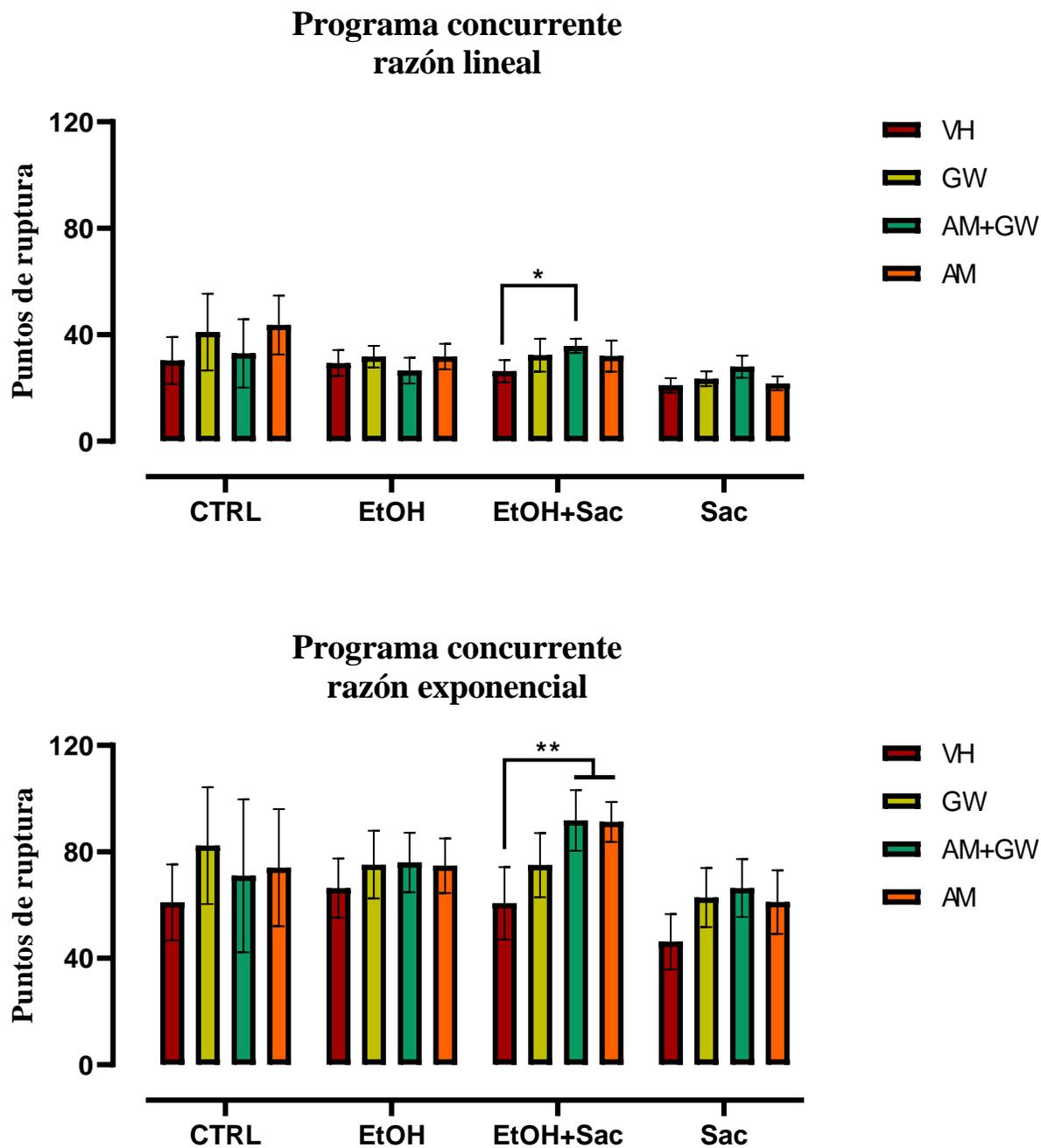
Nota: Se muestran las respuestas emitidas en la opción con razón lineal (superior) y las respuestas emitidas en la opción con razón exponencial (inferior) con los tratamientos farmacológicos en la

condición vehículo (VH), agonista (GW405833), co-tratamiento de agonista + antagonista (AM+GW) y antagonista (AM630) durante la prueba con el programa de reforzamiento concurrente. Los datos están expresados en términos de medias y EEM. * $p < .05$, *razón lineal vs. exponencial* (n=5).

Con el ANOVA de dos entradas se encontró que los puntos de ruptura en la opción asociada a la razón lineal aumentan significativamente [factor tratamiento farmacológico $F_{(3, 21)} = 2.537$; $p = .046$], con la prueba *post hoc Tukey* se halló que es en el grupo EtOH+Sac donde aumenta en la condición co-tratamiento del antagonista + agonista vs vehículo ($p < .05$). Por su parte, en la opción asociada a la razón exponencial también se hallaron diferencias significativas intra grupo EtOH+Sac [factor tratamiento farmacológico $F_{(3, 21)} = 4.921$; $p = .01$], con la prueba *post hoc Tukey* se determinó que la diferencia se presentó ante la administración del antagonista AM630 ($1.0\mu\text{g}/0.5\mu\text{L}$; $p < .01$) y el co-tratamiento ($p = .010$), aumentando significativamente los puntos de ruptura en esta opción vs. la condición vehículo (ver Figura 20).

Figura 20

Puntos de ruptura en la opción asociada a la razón lineal y exponencial con los tratamientos farmacológicos en el programa de reforzamiento concurrente

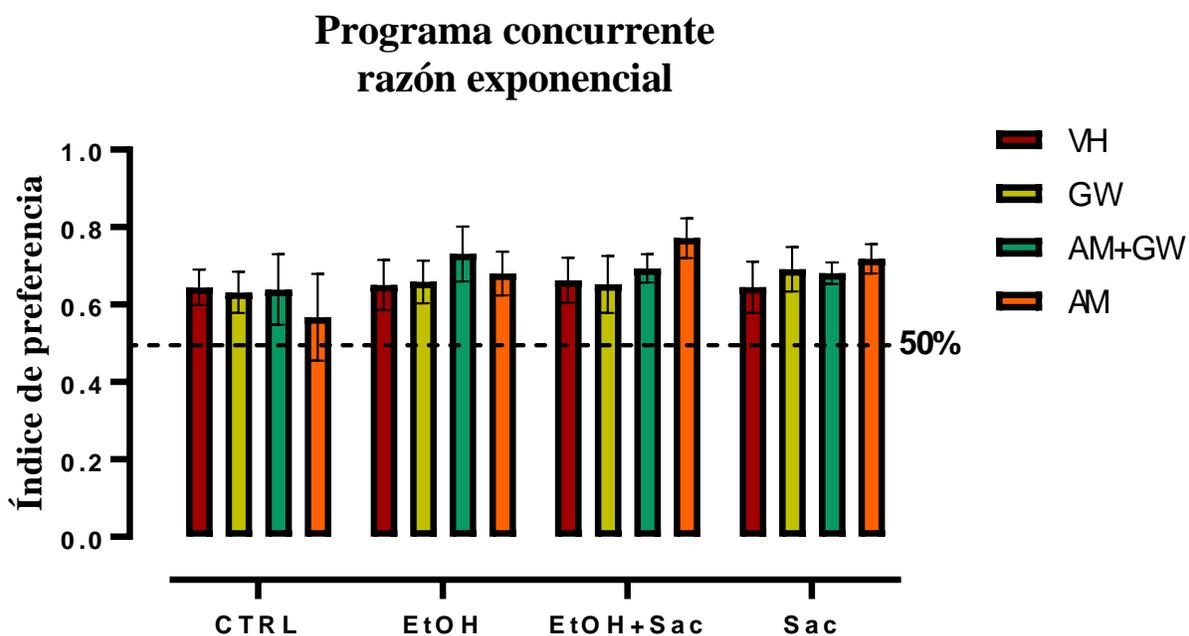
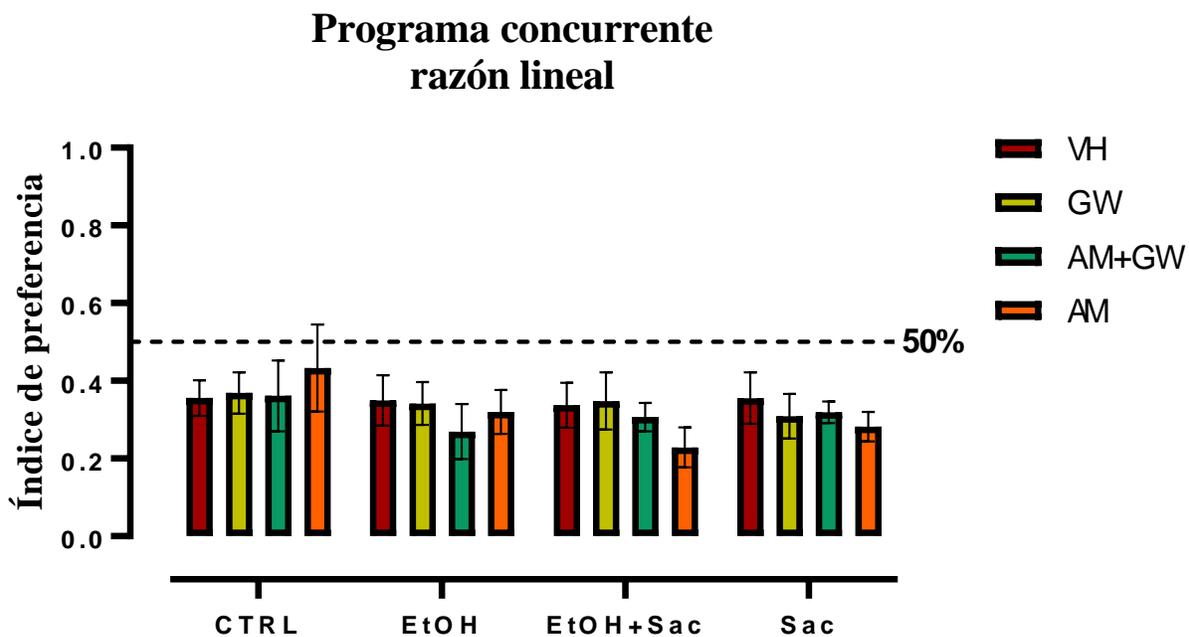


Nota: Se muestran los puntos de ruptura en la opción con razón lineal (superior) y en la opción con razón exponencial (inferior) con los tratamientos farmacológicos en la condición vehículo (VH), agonista (GW405833), co-tratamiento del antagonista+agonista (AM+GW) y el antagonista (AM630) durante la prueba con el programa de reforzamiento concurrente. Los datos están expresados en términos de medias y EEM. * $p < .05$; VH vs AM+GW, ** $p < .01$; VH vs AM, (n=5).

En el ANOVA de dos entradas para el índice de preferencia para cada opción de reforzamiento, no se hallaron diferencias significativas en ninguna de las condiciones farmacológicas en el programa de razón lineal ni tampoco en el programa de razón exponencial (ver Figura 21).

Figura 21

Índice de preferencia en la opción asociada a la razón lineal y exponencial con los tratamientos farmacológicos en el programa de reforzamiento concurrente

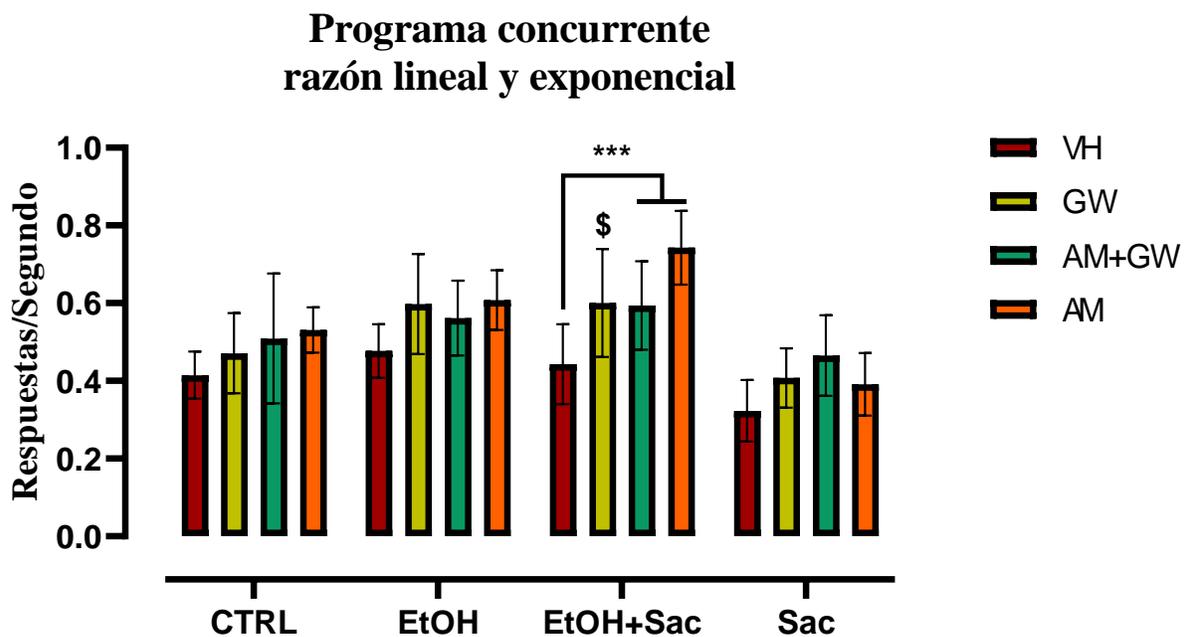


Nota: Se muestra el índice de preferencia en la opción con razón lineal (superior) y en la opción con razón exponencial (inferior) con los tratamientos farmacológicos en la condición vehículo (VH), agonista (GW), co-tratamiento (AM+GW) y antagonista (AM) durante la prueba con el programa de reforzamiento concurrente. Los datos de ambas gráficas están expresados en términos de medias y EEM. No se encontraron diferencias significativas en el ANOVA de dos entradas para medidas repetidas (n=5).

Finalmente, con el ANOVA de dos entradas se determinaron diferencias significativas [factor tratamiento farmacológico $F_{(3, 21)} = 8.186; p < .001$] en la tasa de respuesta para cada sesión contemplando los dos programas de reforzamiento, con la prueba *post hoc Tukey* se encontró que en el grupo EtOH+Sac con la administración intra-CCA del antagonista AM630 (1.0µg/0.5µL; $p < .001$) y el co-tratamiento aumentaron significativamente la tasa de respuesta en la opción con la razón exponencial con respecto a la administración del vehículo, además se encontró que la administración del agonista selectivo GW405833 (0.25µg/0.5µL; $p < .001$) fue menor respecto al tratamiento con el AM630 (1.0µg/0.5µL; $p < .001$) (ver Figura 22).

Figura 22

Tasa de respuesta en la opción con razón lineal y exponencial con los tratamientos farmacológicos en el programa de reforzamiento concurrente



Nota: Se muestra la tasa de respuesta de ambas opciones de reforzamiento con los tratamientos farmacológicos en la condición vehículo (VH), agonista (GW), co-tratamiento (AM+GW) y antagonista (AM) durante la prueba con el programa de reforzamiento concurrente. Los datos están expresados en términos de medias y EEM. \$ $p < .01$; GW vs AM, *** $p < .001$; VH vs AM; VH vs AM+GW, (n=5).

4. Discusión

El objetivo de esta tesis fue determinar la participación de los rCB2 de la CCA en ratas expuestas a un modelo de atracón por EtOH en la toma de decisiones en tareas con costo de esfuerzo y demora. En consecuencia, nuestro principal hallazgo es que, en la tarea con costo de esfuerzo, el bloqueo farmacológico de los rCB2 incrementa los puntos de ruptura para obtener alimento palatable en ratas con un historial de consumo intermitente de una solución de EtOH con sacarosa, sin modificar la elección de los animales una vez establecida. El aumento en el número de respuestas emitidas y la tasa de respuesta en la palanca asociada a la razón exponencial indican, además, que el bloqueo de los rCB2 de la CCA favorece la elección de mayor beneficio al incrementar la frecuencia de respuesta en la palanca asociada a la razón exponencial.

La evaluación de los puntos de ruptura en tareas con razones progresivas se ha reportado como un parámetro válido para determinar la motivación por alimento palatable (Kissileff & Herzog, 2018). Así, los resultados obtenidos de incremento en respuestas emitidas, puntos de ruptura y tasa de respuesta en la opción asociada a la razón exponencial, indican que los animales expuestos al consumo intermitente de una solución con EtOH y sacarosa tienen mayor disposición para realizar esfuerzo físico por un estímulo reforzante.

Este hallazgo es coherente con lo reportado por Romero-Ochoa (2022) con respecto a la participación de los rCB2 de la CCA en el valor reforzante de la elección cuando ya se ha establecido, es decir, los rCB2 aumentan la motivación por alimento palatable en una tarea con costo de esfuerzo, pero no participan en la toma de la decisión.

Como primer objetivo particular se determinó estandarizar el modelo de la conducta tipo atracón de EtOH en ratas de 17 DPN; en la fase de expresión del modelo de CTA en los grupos

EtOH y EtOH+Sac incrementaron significativamente su ingesta calculada en gramos con respecto al grupo control (ver Figura 4). Asimismo, la ingesta energética fue superior para esos dos grupos desde el inicio del modelo respecto a los grupos control y sacarosa.

Se consideró la edad de los animales en nuestra estandarización del modelo DID con exposición intermitente a EtOH. Podemos determinar que se logró establecer y expresar la CTA de EtOH de acuerdo con Thiele y Navarro (2013), que consideran como factores relevantes el acceso limitado a la solución en periodos de dos a cuatro horas, iniciada la exposición dentro de las primeras tres horas al inicio del ciclo de oscuridad y mantener intermitente la exposición con periodos de retirada de EtOH; además, del factor de la edad de los animales reportado por Nelson et al. (2019) que sugiere el empleo de animales jóvenes para reproducir lo más cercano la expresión de los atracones de EtOH en humanos.

Otro factor trascendente en nuestro modelo fue emplear concentraciones bajas de EtOH (2%) y sacarosa (0.15%) con exposición de consumo voluntario vía oral. Estos parámetros coinciden con lo reportado por Williams et al. (2018) quienes reportan que el modelo de dos botellas con exposición intermitente a una solución de EtOH (5%) y sacarosa (1%) puede inducir el aumento en su consumo y decrementar la sensibilidad a señales negativas asociadas al EtOH.

Jeanblanc et al. (2019) además, consideran importante que el consumo de las soluciones se presente mediante un modelo voluntario y por vía oral, criterio que se cumple con nuestro modelo, aunado a las ventajas que representa el modelo DID, que aprovecha la tendencia natural de los roedores para expresar conductas consumatorias en la fase oscura (Barkley-Levenson & Crabbe, 2015).

Como segundo objetivo particular se determinó estandarizar las tareas con costo de esfuerzo y demora para evaluar la toma de decisión en ratas con CTA de EtOH. En este sentido, en la fase de entrenamiento conductual observamos que todos los grupos mostraron una clara discriminación entre la palanca activa e inactiva, lo que se traduce en el aprendizaje de la operante.

De igual forma, en la fase de entrenamiento de la tarea con costo de demora hallamos que todos los grupos se desempeñaron de manera similar y en la evaluación conjunta de todas las demoras durante el entrenamiento el patrón de elección no es diferente cuando se evalúa en todo el experimento el índice de preferencia, lo que indica semejanzas en el patrón de respuesta de los sujetos durante el entrenamiento.

Estos hallazgos indican que la configuración de la tarea con costo de demora en cuanto a la serie temporal que establecimos (1, 3, 7, 15 y 30 segundos) y el número de ensayos para cada una de las cinco sesiones por requerimiento de demora, resultó eficiente para evaluar la preferencia de elección, puntos de indecisión y conductas impulsivas en acuerdo con lo reportado por Koffarnus y Kaplan (2018).

Con respecto a la tarea con costo de esfuerzo se encontró que, de forma similar a la tarea con costo de demora, todos los grupos mostraron un desempeño semejante, explicado por el patrón de respuestas emitidas en cada opción de reforzamiento, confirmando que la razón empleada en cada opción de reforzamiento resulta eficiente para evaluar diferentes parámetros en tareas con costo de esfuerzo.

Como tercer objetivo se determinó estandarizar el modelo de impulsividad en la toma de decisión en tareas con costo de esfuerzo y demora, en este sentido, a pesar de que todos los

grupos mostraron una preferencia bien establecida por la opción de mayor beneficio como se esperaba. En la tarea con costo de demora, los grupos experimentales (EtOH, EtOH+Sac y Sacarosa) cambiaron su preferencia de elección a la palanca de reforzamiento inmediato cuando el requerimiento de demora fue de 15 segundos, mientras que el grupo control mantuvo su preferencia por la opción demorada, lo que sugiere que el acceso intermitente a EtOH y sacarosa induce menor tolerancia a la espera a pesar de un mayor beneficio, definiendo esta intolerancia como una conducta impulsiva al descartar la opción asociada a la demora que otorga la mayor recompensa (Sosa & Dos Santos, 2018).

Todos los grupos mostraron fluctuaciones y hubo heterogeneidad en los patrones del índice de preferencia y puntos de indecisión respecto al grupo control, lo que indica que la exposición intermitente a EtOH y sacarosa promueve conductas impulsivas al generar mayor dificultad para discriminar entre las opciones disponibles y elegir la de mayor beneficio.

Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Khani et al. (2015) donde el grupo control mantiene una preferencia clara por la opción de mayor beneficio a pesar de la espera en una tarea con costo de demora, eligiendo en por lo menos 80% de las ocasiones esta opción. Por otro lado, Romero-Ochoa (2022) reporta que, en una tarea con costo de demora, animales del grupo control y del grupo expuesto a una dieta alta en grasa, presentan mayor número de respuestas y preferencia por la opción de reforzamiento inmediato, aunque esto podría deberse a la configuración de la tarea con costo de demora, al incrementar la demora dentro de una sesión, lo que podría influir en la capacidad para discriminar la opción de mayor beneficio.

Interesantemente, en la tarea con costo de esfuerzo el grupo expuesto a la solución de EtOH incrementó los puntos de ruptura en la opción de reforzamiento asociada a la mayor recompensa (razón exponencial) respecto al grupo control (ver Figura 16), indicando que una

solución con concentración de EtOH baja (2%) aumentó la motivación por conseguir alimento palatable. Este grupo fue más eficiente en la elección de mayor beneficio, además de mostrar un porcentaje de preferencia y tasa de respuesta superior, incluso en comparación con el grupo control, lo que nos hace proponer que se sensibilicen procesos cognitivos como la búsqueda, el deseo por el reforzador, o la planeación de la tarea compatibles con la conducta que evaluamos.

Por el contrario, el grupo con acceso a la solución de sacarosa mostró mayor impulsividad al expresar más dificultad para identificar la opción de mayor recompensa explicado por mayores puntos de indecisión en el índice de preferencia, así como presentar el menor porcentaje de elección de la opción con mayor beneficio en comparación con los demás grupos.

Finalmente, como cuarto objetivo particular se estableció determinar el efecto de la activación farmacológica de los rCB2 en la CCA sobre la toma de decisiones en una tarea con costo de esfuerzo y demora. En la tarea con costo de demora, encontramos que la microinyección del GW405833 no modificó la emisión de las respuestas para las opciones de reforzamiento inmediato y demorado, tampoco observamos cambios en la preferencia por una u otra opción de reforzamiento ni en la tasa de respuesta.

Lo anterior podría explicarse a partir de la evidencia en ratas la cual especifica que, la CCA participa mayormente en tareas que implican esfuerzo físico (Porter et al., 2019). En este sentido Rudebeck et al. (2006) reportaron que la excitotoxicidad en la CCA decrementa la preferencia por la opción que requiere mayor esfuerzo físico asociado a una mayor recompensa, pero no se modifica la elección en una tarea con costo de demora.

Con respecto a la activación de los rCB2 en la tarea con costo de esfuerzo, encontramos que la tasa de respuesta en el grupo EtOH+Sac decreció con la microinyección del AM630, sin embargo, no se alteró la preferencia, número de respuestas emitidas, ni los puntos de ruptura por una u otra opción de reforzamiento. Por el contrario, se registró que con la microinyección de AM630 intra-CCA aumentaron las respuestas en el programa concurrente en la razón exponencial, opción de mayor beneficio, este efecto inespecífico indica mecanismos distintos a lo propuesto originalmente, se pueden deber a la interacción del fármaco con otros sitios de neurotransmisión. También existe evidencia en la que se ha reportado que administraciones centrales de AM630 puede estimular conductas que se previenen al administrarse en combinación con agonistas rCB2 (Almeida-Santos et al., 2013; Contanterse et al., 2012; He et al., 2020).

En un modelo semejante al que se empleó en esta tesis, observaron que con la administración de GW405833 intra-CCA, los animales controles aumentaron el número de respuestas en la opción de mayor beneficio en un programa concurrente, respecto a los animales expuestos intermitentemente a una dieta alta en grasas, usando la misma dosis (Romero-Ochoa, 2022). Una posible explicación de no encontrar diferencias en nuestro experimento puede deberse a que el GW405833 en la CCA esté teniendo interacciones con otros sitios de neurotransmisión, aunque la Ki es altamente selectiva por los rCB2 (31.2nM) y 1 000 veces más selectiva respecto a los rCB1 (5 152 nM), el factor en la diferencia de expresión entre ambos receptores, es que el rCB1 se expresa ampliamente en el cerebro, mientras que los rCB2 se expresan en este tejido solo en condiciones muy específicas de patologías que involucran neuroinflamación (Chayasirisobhon, 2019).

Por otro lado, se ha reportado que en modelos de exposición temprana a dietas altas en grasas se presenta una disminución en la sensibilidad farmacológica con la administración intra-NAc con el GW405833 que sí se observó en los animales controles, y que al evaluar la expresión de los receptores en esa región se registra una disminución significativa en astroglia y una tendencia en neuronas (Cortés-Salazar, 2023).

Con la administración continua de EtOH durante 21 días se observa un decremento significativo en la expresión de los rCB2 en la corteza IL e hipocampo, y posterior a un periodo breve de retirada se observa el efecto contrario en el NAc y la CCA (Coelhoso et al., 2013). De igual forma, Ishiguro et al. (2007) demostraron que la ingesta de EtOH disminuye la expresión del gen *Cnr2* en el mesencéfalo ventral. En conjunto estos datos indican que el EtOH puede alterar la expresión de los rCB2 en la corteza cerebral y áreas subcorticales, lo que sugiere que la toma de decisiones en tareas con costo de esfuerzo y demora tiene una demanda cognitiva importante en la que participan otras regiones de la CP, como la corteza IL o PL, el hipocampo y el Nac. Aunque en nuestro modelo no logramos evaluar las implicaciones de lo anterior, sí aportamos suficiente evidencia experimental en uno de los elementos de la toma de decisión y es que la exposición a soluciones con sacarosa y sacarosa más EtOH modifican el patrón de elección.

Sánchez-Marín et al. (2017) reportaron un decremento en la expresión de los rCB2 en el cuerpo estriado de ratas jóvenes que recibieron inyecciones intraperitoneales de EtOH 3g/kg cuatro días por semana, emulando el consumo de los modelos de CTA de EtOH. Estos hallazgos demuestran las alteraciones en la expresión y/o sensibilidad de los rCB2 a los fármacos ante el acceso intermitente a EtOH.

5. Limitaciones y perspectivas

Nuestros resultados exponen la implicación de los rCB2 en tareas con costo de esfuerzo y demora en diferentes parámetros que se evaluaron como la tasa de respuesta y los puntos de ruptura; sin embargo, con las tareas y estrategias empleadas, se carece de información acerca de las estirpes neuronales involucradas en dichos efectos conductuales observados, además de que no se considera la probable participación conjunta entre los rCB1 y rCB2 en nuestro paradigma de CTA de EtOH y en las tareas de toma de decisiones con costo de demora y esfuerzo.

A partir de lo anterior, surgen interrogantes que permiten proponer experimentos enfocados en esclarecer la expresión de los rCB2 en distintos fenotipos celulares de la CCA, como astrocitos e interneuronas GABAérgicas, así como considerar la posible interacción entre los rCB1 y rCB2 en neuronas y astrocitos involucrados en los efectos encontrados en la presente tesis.

Los hallazgos asociados a procesos cognitivos como la impulsividad y motivación podrían considerarse en futuras investigaciones al evaluarse con nuevas tareas conductuales, además de involucrar otras regiones y núcleos relacionados con el procesamiento de las propiedades reforzantes como el ATV, NAc, y amígdala.

6. Conclusiones

1. La exposición intermitente a soluciones bajas de EOH y/o sacarosa genera un modelo confiable para expresar la conducta tipo atracón, caracterizado por: *i)* incremento en el consumo energético y en volumen de las soluciones con EtOH y/o sacarosa en las sesiones de atracón; *ii)* mantener estable la ganancia de peso corporal; *iii)* inducir conductas impulsivas: intolerancia a la demora y desviar la elección del máximo reforzador posible.
2. La CTA de EtOH se relaciona con la impulsividad medida con la indecisión, mayor fluctuación en la preferencia en un programa concurrente con costo de esfuerzo y menor tolerancia a la espera en la toma de decisión en una tarea con costo de demora.
3. La tarea concurrente con dos programas de reforzamiento, lineal y exponencial, permitió determinar las conductas impulsivas a través del índice de preferencia, las respuestas emitidas en cada opción y los puntos de ruptura; mientras que el programa concurrente con demora progresiva permitió entrenar a los animales para que tomaran una elección ante diferentes requerimientos de demora y así determinar su impulsividad.
4. En nuestro modelo no logramos determinar si los rCB2 de la CCA participan en la regulación de la motivación, ni en la expresión de impulsividad en la toma de decisión en tareas con costo de esfuerzo donde se reforzó con alimento palatable en ratas que fueron expuestas a edad temprana.

7. Referencias

- Almeida-Santos, A. F., Gobira, P. H., Rosa, L. C., Guimaraes, F. S., Moreira, F. A., y Aguiar, D. C. (2013). Modulation of anxiety-like behavior by the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol (2-AG) in the dorsolateral periaqueductal gray. *Behavioural Brain Research*, 252, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.05.027>
- Asociación Americana de Psiquiatría. (2022). *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales texto revisado*, México: Panamericana. ISBN 9788491103721.
- Arnone, M., Maruani, J., Chaperon, F., Thiébot, M. H., Poncelet, M., Soubrié, P. y Le Fur, G. (1997). Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology*, 132(1), 104–106. <https://doi.org/10.1007/s002130050326>
- Avena, N. M., Rada, P. y Hoebel, B. G. (2008). Evidence for sugar addiction: Behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 32(1), 20–39. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.04.019>
- Barkley-Levenson, A. M. y Crabbe, J. C. (2015). Distinct ethanol drinking microstructures in two replicate lines of mice selected for drinking to intoxication. *Genes, Brain and Behavior*, 14(5), 398–410. <https://doi.org/10.1111/gbb.12225>
- Basavarajappa, B. S., Ninan, I. y Arancio, O. (2008). Acute ethanol suppresses glutamatergic neurotransmission through endocannabinoids in hippocampal neurons. *Journal of neurochemistry*, 107(4), 1001–1013. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05685.x>

- Beilharz, J. E., Maniam, J. y Morris, M. J. (2014). Short exposure to a diet rich in both fat and sugar or sugar alone impairs place, but not object recognition memory in rats. *Brain, Behavior, and Immunity*, 37, 134–141. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.11.016>
- Bi, G., Galaj, E., He, Y. y Xi, Z. (2019). Cannabidiol inhibits sucrose self-administration by CB1 and CB2 receptor mechanisms in rodents. *Addiction Biology*, 25, 1–11. <https://doi.org/10.1111/adb.12783>
- Boehm, S. L. Moore, E. M., Walsh, C. D. Gross, C. D. Cavelli, A. M. Gigante, E. y Linsenbardt, D. N. (2008). Using drinking in the dark to model prenatal binge-like exposure to ethanol in C57BL/6J mice. *Developmental Psychobiology*, 50(6), 566–578. <https://doi.org/10.1002/dev.20320>
- Caillé, S., Alvarez-Jaimes, L., Polis, I., Stouffer, D. G. y 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. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4403-06.2007>
- Chayasirisobhon S. (2019). Cannabis and Neuropsychiatric Disorders: An Updated Review. *Acta neurologica Taiwanica*, 28(2), 27–39.
- Chung, T., Creswell, K. G., Bachrach, R., Clark, D. B. y Martin, C. S. (2018). Adolescent Binge Drinking. *Alcohol research: current reviews*, 39(1), 5–15.
- Coelhoso, C. C., Engelke, D. S., Filev, R., Silveira, D. X., Mello, L. E. y Santos-Junior, J. G. (2013). Temporal and behavioral variability in cannabinoid receptor expression in outbred mice submitted to ethanol-induced locomotor sensitization paradigm. *Alcoholism*,

Clinical and Experimental Research, 37(9), 1516–1526.

<https://doi.org/10.1111/acer.12130>

Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. (23 de septiembre de 2023).

Estrategia Nacional para la prevención del consumo de bebidas alcohólicas en menores de edad. <https://www.gob.mx/cofepris/articulos/estrategia-nacional-para-la-prevencion-del-consumo-de-bebidas-alcoholicas-en-menores-de-edad>

Contartese, A., Valoti, M., Corelli, F., Pasquini, S., Mugnaini, C., Pessina, F., Aldinucci, C., Sgaragli, G., y Frosini, M. (2012). A novel CB2 agonist, COR167, potently protects rat brain cortical slices against OGD and reperfusion injury. *Pharmacological Research*, 66(6), 555–563. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.08.003>

Corcoran, L., Mattimoe, D., Roche, M. y Finn, D. (2020). Attenuation of fear-conditioned analgesia in rats by monoacylglycerol lipase inhibition in the anterior cingulate cortex: potential role for CB2 receptors. *British Journal of Pharmacology*, 177(10), 2240–2255. <https://doi.org/10.1111/bph.14976>

Cortés-Salazar, F. (2023). *Propiedades reforzantes del alimento en un modelo animal de OID. Participación de los receptores a cannabinoides del Núcleo Accumbens*. [Tesis de Doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México]. 132.248.9.195/ptd2023/octubre/0847938/Index.html

Corwin, R., Avena, N. y Boggiano, M. (2011). Feeding and reward: perspectives from three rat models of binge eating. *Physiology and Behavior*, 104(1), 87–97. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.04.041>.

- Crabbe, J., Harris, R., & Koob, G. (2011). Preclinical studies of alcohol binge drinking. *Annals of the New York Academic of Sciences*, 1216, 24–40. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05895.x>
- Crews, F., He, J. y Hodge, C. (2007). Adolescent cortical development: a critical period of vulnerability for addiction. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 82(2), 189–199. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.12.001>
- Davis, C. y Carter, J. C. (2009). Compulsive overeating as an addiction disorder. A review of theory and evidence. *Appetite*, 53(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2009.05.018>
- de Sa Nogueira, D., Bourdy, R., Filliol, D., Awad, G., Andry, V., Goumon, Y., Olmstead, M. C. y Befort, K. (2021). Binge sucrose-induced neuroadaptations: A focus on the endocannabinoid system. *Appetite*, 164, 105228. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2021.105258>
- Donovan J. E. (2009). Estimated blood alcohol concentrations for child and adolescent drinking and their implications for screening instruments. *Pediatrics*, 123(6). <https://doi.org/10.1542/peds.2008-0027>
- Dore, R., Valenza, M., Wang, X., Rice, K. C., Sabino, V. y Cottone, P. (2014). The inverse agonist of CB1 receptor SR141716 blocks compulsive eating of palatable food. *Addiction Biology*, 19(5), 849–861. <https://doi.org/10.1111/adb.12056>
- Doya, K. y Shadlen, M. N. (2012). Decision making. *Current Opinion in Neurobiology*, 22(6), 911–913. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2012.10.003>

- Economidou, D., Mattioli, L., Cifani, C., Perfumi, M., Massi, M., Cuomo, V., Trabace, L. y Ciccocioppo, R. (2006). Effect of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR-141716A on ethanol self-administration and ethanol-seeking behaviour in rats. *Psychopharmacology*, 183(4), 394–403. <https://doi.org/10.1007/s00213-005-0199-9>
- Fatahi, Z. y Haghparast, A. (2018). Activation of the cannabinoid system in the nucleus accumbens affects effort-based decision-making. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 165, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2017.12.008>
- Filbey, F. M., Schacht, J. P., Myers, U. S., Chavez, R. S., & Hutchison, K. E. (2010). Individual and additive effects of the CNR1 and FAAH genes on brain response to marijuana cues. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(4), 967–975. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.200>
- Floresco, S. B., Montes, D. R., Tse, M. M. T. y van Holstein, M. (2018). Differential contributions of Nucleus Accumbens subregions to cue-guided risk/reward decision making and implementation of conditional rules. *Journal of Neuroscience*, 38(8), 1901–1914. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3191-17.2018>
- Floresco, S. B., Tse, M. T. y Ghods-Sharifi, S. (2008). Dopaminergic and glutamatergic regulation of effort- and delay-based decision making. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 33(8), 1966–1979. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301565>
- Freeman, C. R., Zehra, A., Ramirez, V., Wiers, C., Volkow, N. D. y Wang, G. J. (2018). Impact of sugar on the body, brain and behavior. *Frontiers in Bioscience (Landmark edition)*, 23(12), 2255–2266. <https://doi.org/10.2741/4704>

- Galaj, E. y Ranaldi, R. (2021). Neurobiology of reward related learning. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 124, 224–234. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.02.007>
- Gallegos, S., Muñoz, B., Araya, A. y Aguayo, L. G. (2019). High ethanol sensitive glycine receptors regulate firing in Da medium spiny neurons in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, 160, 107773. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107773>
- García-Gutiérrez, M. S., Navarrete, F., Gasparyan, Á., Navarro, D., Morcuende, A., Femenía, T. y Manzanares, J. (2022) Role of cannabinoid CB2 receptor in alcohol use disorders: From animal to human studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 5908. <https://doi.org/10.3390/ijms23115908>
- Glascher, J., Adolphs, R., Damasio, H., Bechara, A., Rudrauf, D., Calamia, M., Paul, L. K., & Tranel, D. (2012). Lesion mapping of cognitive control and value-based decision making in the prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(36), 14681–14686. <https://doi.org/10.1073/pnas.1206608109>
- Gold, J. I. y Shadlen, M. N. (2007). The neural basis of decision making. *Annual Review of Neuroscience*, 30, 535–574. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.113038>
- Groman, S. M. (2020). The Neurobiology of Impulsive Decision-Making and Reinforcement Learning in Nonhuman Animals. En de Wit, H. y Jentsch, J. D. (Ed.), *Recent advances in research on impulsivity and impulsive behaviors* (pp. 23-53). Springer Nature Switzerland AG.
- Guerri, C. (2000). Mechanism of ethanol actions in the brain. *Trastornos Adictivos*, 2(1), 12–84. <https://www.elsevier.es/es-revista-trastornos-adictivos-182-articulo-como-actua-el-alcohol-nuestro-10016452>

- Gutierrez, R., Fonseca, E. y Simon, S. A. (2020). The neuroscience of sugars in taste, gut-reward, feeding circuits and obesity. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77, 3469–3502. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03458-2>
- Hao, L., Yang, Z. y Lei, J. (2018). Underlying Mechanisms of Cooperativity, Input Specificity and Associativity of Long-Term Potentiation Through a Positive Feedback of Local Protein Synthesis. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 12, 25. <https://doi.org/10.3389/fncom.2018.00025>
- Hao, S., Yang, Y., Helmy, M. y Wang, H. (2020). Neural Regulation of Feeding Behavior. En H. Wang (Ed.), *Neural Circuits of Innate Behaviors* (Vol. 1284, pp. 23-33). Springer Singapore.
- Hargreaves, G. A., Monds, L., Gunasekaran, N., Dawson, B. y McGregor, I. S. (2009). Intermittent access to beer promotes binge-like drinking in adolescent but not adult Wistar rats. *Alcohol*, 43(4), 305–314. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2009.02.005>
- Hauck, C., Cook, B., y Ellrott, T. (2020). Food adiction, eating addiction and eating disorders. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 79(1), 103–112. <https://doi.org/10.1017/S0029665119001162>
- He, Y., Galaj, E., Bi, G. H., Wang, X. F., Gardner, E., y Xi, Z. X. (2020). β -Caryophyllene, a dietary terpenoid, inhibits nicotine taking and nicotine seeking in rodents. *British Journal of Pharmacology*, 177(9), 2058–2072. <https://doi.org/10.1111/bph.14969>
- Heilbronner, S. R., Rodriguez-Romaguera, J., Quirk, G. J., Groenewegen, H. J. y Haber, S. N. (2016). Circuit-Based Corticostriatal Homologies Between Rat and Primate. *Biological Psychiatry*, 80(7), 509–521. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.05.012>

Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). *Metodología de la investigación*. México: McGraw-Hill Education.

Hosking, J. G., Cocker, P. J. y Winstanley, C. A. (2014). Dissociable contributions of anterior cingulate cortex basolateral amygdala on a rodent cost/benefit decision-making task of cognitive effort. *Neuropsychopharmacology*, 39, 1558–1567.

<https://doi.org/10.1038/npp.2014.27>

Howell, N. A., Worbe, Y., Lange, I., Tait, R., Irvine, M., Banca, P., Harrison, N. A., Bullmore, E. T., Hutchison, W. D. y Voon, V. (2013). Increased ventral striatal volume in college-aged binge drinkers. *PloS one*, 8(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074164>

Hudson, P. H., Balodis, I. M. y Potenza, M. N. (2018). Binge-eating disorder: Clinical and therapeutic advances. *Pharmacology & Therapeutics*, 182, 15–27.

<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.08.002>

Hu, Y., van Wingender, M., Sellitto, M., Schäble, S. y Kalensher, T. (2021). Anterior cingulate cortex abolish budget effects on effort-based decision-making in rat consumers. *Journal of Neuroscience*, 41(20), 4448–4460. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2541-20.2021>

Imperator, C., Fabbriatore, M., Vumbaca, V., Innamorati, M., Contardi, A. y Farina, B. (2016). Food Addiction: definition, measurement and prevalence in healthy subjects and patients with eating disorders. *Rivista di Psichiatria*, 51(2), 60–65.

<https://doi.org/10.1708/2246.24196>

Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz; Instituto Nacional de Salud

Pública; Comisión Nacional Contra las adicciones; Secretaría de Salud. (2017). *Encuesta*

Nacional de consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco 2016-2017: reporte de alcohol.

<https://www.insp.mx/avisos/4585-encodat-2016.html>

Instituto Nacional de Salud Pública. (23 de septiembre de 2023). *Sistema de etiquetado frontal de alimentos y bebidas para México.* <https://www.insp.mx/avisos/4771-etiquetado-alimentos-bebidas-gda.html>

Ishiguro, H., Iwasaki, S., Teasenfitz, L., Higuchi, S., Horiuchi, Y., Saito, T., Arinami, T. y Onaivi, E. S. (2007). Involment of cannabinoid CB2 receptor in alcohol preference in mice and alcoholism in humans. *Pharmacogenomics Journal*, 7, 380–385.

<https://doi.org/10.1038/sj.tpj.6500431>

Jeanblanc, J., Rolland, B., Gierski, F., Martinetti, M. P. y Naassila, M. (2019). Animal models of binge drinking, current challenges to improve face validity. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 106, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.05.002>

Jones, S. A., Lueras, J. M. y Nagel, B. J. (2018). Effects of Binge Drinking on the Developing Brain. *Alcohol Research: Current Reviews*, 39(1), 87–96.

Kenny P. J. (2011). Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. *Neuron*, 69(4), 664–679. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.02.016>

Kermani, M., Fatahi, Z., Sun, D., Haghparast, A., y French, C. (2018). Operant protocols for assessing the cost-benefit analysis during reinforced decision making by rodents. *Journal of Visualized Experiments*, 139, e57907. <https://www.jove.com/video/57907>

Khani, A., Kermani, M., Hesam, S., Haghparast, A., Argandoña, E. G. y Rainer, G. (2015). Activation of cannabinoid system in anterior cingulate cortex and orbitofrontal cortex

- modulates cost-benefit decision making. *Psychopharmacology*, 232, 2097–2112.
<https://doi.org/10.1007/s00213-014-3841-6>
- Kim, S., Shou, J., Abera, S. y Ziff, E. B. (2018). Sucrose withdrawal induces depression and anxiety-like behavior by Kir2.1 upregulation in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, 130, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.11.041>
- Kissileff, H. R. y Herzog, M. (2018). Progressive ratio (PR) schedules and the sipometer: Do they measure wanting, linking, and/or reward? A tribute to Anthony Sclafani and Karen Ackroff. *Appetite*, 122, 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.09.014>
- Klein-Flügge, M. C., Kennerley, S. W., Friston, K. y Bestmann, S. (2016). Neural signatures of value comparison in human cingulate cortex during decision requiring and effort-reward trade-off. *Journal of Neuroscience*, 36(39), 10002–10015.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0292-16.2016>
- Koffarnus, M. N. y Kaplan, B. A. (2018). Clinical models of decision making in addiction. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 164, 71–83.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2017.08.010>
- Koob, G. F., Kenneth Lloyd, G. y Mason, B. J. (2009). Development of pharmacotherapies for drug addiction: a Rosetta stone approach. *Nature Reviews. Drug discovery*, 8(6), 500–515. <https://doi.org/10.1038/nrd2828>
- Koob, G. F. y Volkow, N. D. (2016). Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *The Lancet. Psychiatry*, 3(8), 760–773. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)00104-8](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)00104-8)

- Ledesma, J. C., Rodríguez-Arias, M., Gavito, A. L., Sánchez-Pérez, A. M., Viña, J., Medina Vera, D., Rodríguez de Fonseca, F. y Miñarro, J. (2021). Adolescent binge-ethanol accelerates cognitive impairment and β -amyloid production and dysregulates endocannabinoid signaling in the hippocampus of APP/PSE mice. *Addiction Biology*, 26(1), e12883. <https://doi.org/10.1111/adb.12883>
- Lees, R. y Lingford-Hughes, A. (2012). Neurobiology and principles of addiction and tolerance. *Medicine*, 40(12), 633–636. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2012.09.002>
- Levine, O. B. Skelly, M. J., Miller, J. D., Rivera-Irizarry, J. K., Rowson, S. A. DiBerto, J. F., Rinker, J. A., Thiele, T. E., Kash, T. L. y Pleil, K. E. (2021). The paraventricular thalamus provides a polysynaptic brake on limbic CRF neurons to sexdependently blunt binge alcohol drinking and avoidance behavior in mice. *Nature Communications*, 12(5080). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25368-y>
- Linsensbardt, D. N., & Boehm, S. L., 2nd (2009). Agonism of the endocannabinoid system modulates binge-like alcohol intake in male C57BL/6J mice: involvement of the posterior ventral tegmental area. *Neuroscience*, 164(2), 424–434. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.08.007>
- Macino, S., Burokas, A., Gutiérrez-Cuesta, J., Gutiérrez-Martos, M., Martín-García, E., Pucci, M., Falconi, A., D'Addario, C., Maccarrone, M. y Maldonado, R. (2015). Epigenetic and Proteomic Expression Changes Promoted by Eating Addictive-Like Behavior. *Neuropsychopharmacology*, 40(12), 2788–2800. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.129>
- Makarem, N., Bandera, E. V., Nicholson, J. M. y Parekh, N. (2018). Consumption of sugars, sugary foods, and sugary beverages in relation to cancer risk: a systematic review of

- longitudinal studies. *Annual Review of Nutrition*, 38, 17–39.
<https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-082117-051805>
- Monteleone, P., Matias, I., Martiadis, V., De Petrocellis, L., Maj, M. y Di Marzo, V. (2005). Blood levels of the endocannabinoid anandamide are increased in anorexia nervosa and in binge-eating disorder, but not in bulimia nervosa. *Neuropsychopharmacology*, 30, 1216–1221. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300695>
- Morales, A., Gómez, A., Jiménez, B., Jiménez, F., León, G., Majano, A., Rivas, D., Rodríguez, M., y Soto, C. (2015). Trastorno por atracón: prevalencia, factores asociados y relación con la obesidad en adultos jóvenes universitarios. *Revista Colombiana de Psiquiatría.*, 44(3), 177–182. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=80643082008>
- Mustelin, L., Lehtokari, V. y Keski-Rahkonen, A. (2016). Other specified and unspecified feeding or eating disorders among women in the community. *International Journal of Eating Disorders*, 49(11), 1010–1017. <https://doi.org/10.1002/eat.22586>
- National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. (17 de agosto de 2023). Drinking Levels Defined. <https://www.niaaa.nih.gov/alcohol-health/overview-alcohol-consumption/moderate-binge-drinking>
- Nelson, D. E., Naimi, T. S., Brewer, R. D. y Nelson, H. A. (2009). State alcohol-use estimates among youth and adults, 1993-2005. *American Journal of Preventive Medicine*, 36(3), 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2008.10.018>
- Novelle, M. y Diéguez, C. (2018). Food Addiction and Binge Eating: Lessons Learned from Animal Models. *Nutrients*, 10(1), 71, 1–24. <http://dx.doi.org/10.3390/nu10010071>

- Ohkuri, T., Horio, N., Stratford, J. M., Finger, T. E. y Ninomiya, Y. (2012). Residual chemoresponsiveness to acids in the superior laryngeal nerve in “taste-blind” (P2X2/P2X3 double-KO) mice. *Chemical Senses*, 37(6), 523–532.
<https://doi.org/10.1093/chemse/bjs004>
- Organización Mundial de la Salud. (25 de octubre de 2023). *Alcohol*.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/alcohol>
- Organización Mundial de la Salud. (2019). Global status report on alcohol and health 2018. ISBN: 978-92-4-156563-9
- Organización Mundial de la Salud. (25 de octubre de 2023). *Trastornos mentales*.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders>
- Orsini, C. A., Moorman, D. E., Young, J. W., Setlow, B. y Floresco, S. B. (2015). Neural mechanisms regulating different forms of risk-related decision-making: Insights from animal models. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 58, 147–167.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.04.009>
- Paulus, M. P. (2005). Neurobiology of decision-making: Quo vadis?. *Brain Research. Cognitive Brain Research*, 23(1), 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.cogbrainres.2005.01.001>
- Pava, M. J., y Woodward, J. J. (2012). A review of interactions between alcohol and the endocannabinoid system: Implications for alcohol dependence and future directions of research. *Alcohol*, 46(3), 185–204. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2012.01.002>
- Paxinos, G y Watson, C. (2006). *The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition*. Elsevier.
- Perra, S., Pillolla, G., Luchicchi, A. y Pistis, M. (2008). Alcohol inhibits spontaneous activity of basolateral amygdala projection neurons in the rat: involvement of the endocannabinoid

- system. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 32(3), 443–449.
<https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00588.x>
- Porter, B. S., Hillman, K. L. y Bilkey, D. K. (2019). Anterior cingulate cortex encoding of effortful behavior. *Journal of Neurophysiology*, 121(2), 701–714.
<https://doi.org/10.1152/jn.00654.2018>
- Randall, P. A., Pardo, M., Nunes, E. J., López Cruz, L., Vemuri, V. K., Makriyannis, A., Baqi, Y., Müller, C. E., Correa, M. y Salamone, J. D. (2012). Dopaminergic modulation of effort-related choice behavior as assessed by a progressive ratio chow feeding choice task: pharmacological studies and the role of individual differences. *PloS one*, 7(10), e47934.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047934>
- Rhodes, J. S. Best, K., Belknap, J. K., Finn, D. A. y Crabbe, J. C. (2005). Evaluation of a simple model of ethanol drinking to intoxication in C57BL/6J mice. *Physiology and Behavior*, 84(1), 53–63. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.10.007>
- Roberto, M., Cruz, M., Bajo, M., Siggins, G. R., Parsons, L. H. y Schweitzer, P. (2010). The endocannabinoid system tonically regulates inhibitory transmission and depresses the effect of ethanol in central amygdala, 35(9), 1962–1972.
<https://doi.org/10.1038/npp.2010.70>
- Rolls, E. T. (2023). Emotion, motivation, decision-making, the orbitofrontal cortex, anterior cingulate cortex, and the amygdala. *Brain Structure and Function*, 228, 1201–1257.
<https://doi.org/10.1007/s00429-023-02644-9>

- Romer, K., Buhl, M., Hesse, M., Lehmann, T., Mulbjerg, M., Uffe, M. & Voon V. (2018). Impulsivity traits and addiction-related behaviors in youth. *Journal of Behavioral Addictions*, 7(2), 317–330. <https://doi.org/10.1556/2006.7.2018.22>
- Romero-Ochoa, N. F. (2022). *Participación de los receptores CB2 en la toma de decisiones de ratas con conducta tipo atracción* [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. <https://hdl.handle.net/20.500.14330/TES01000833646>
- Rossi, M. A. y Stuber, G. D. (2018). Overlapping brain circuits for homeostatic and hedonic feeding. *Cell metabolism*, 27(1), 42–56. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.09.021>
- Rudebeck, P. H., Walton, M. E., Smyth, A. N., Bannerman, D. M. y Rushworth, M. F. (2006). Separate neural pathways process different decision cost. *Nature Neuroscience*, 9(9), 1161–1168. <https://doi.org/10.1038/nn1756>
- Sanchez-Marin, L., Pavon, F. J., Decara, J., Suarez, J., Gavito, A., Castilla-Ortega, E., Rodriguez de Fonseca, F. y Serrano, A. (2017). Effects of Intermittent Alcohol Exposure on Emotion and Cognition: A Potential Role for the Endogenous Cannabinoid System and Neuroinflammation. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11, 15. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00015>
- Santos, C. J., Ferreira, A. V., Oliveira, A. L., Oliveira, M. C., Gomes, J. S. y Aguiar, D. C. (2018). Carbohydrate-enriched diet predispose to anxiety and depression-like behavior after stress in mice. *Nutritional Neuroscience*, 21(1), 33–39. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2016.1213529>

- Satta, V., Scherma, M., Piscitelli, F., Usai, P., Castelli, M. P., Bisogno, T., Fratta, W. y Fadda, P. (2018). Limited Access to a High Fat Diet Alters Endocannabinoid Tone in Female Rats. *Frontiers in Neuroscience*, 12, 40. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00040>
- Saunders, B. T., Richard, J. M., Margolis, E. B., y Janak, P. H. (2018). Dopamine neurons create Pavlovian conditioned stimuli with circuit-defined motivational properties. *Nature Neuroscience*, 21(8), 1072–1083. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0191-4>
- Serrano, A., Rivera, P., Pavon, F. J., Decara, J., Suárez, J., Rodriguez de Fonseca, F. y Parsons, L. H. (2012). Differential effects of single versus repeated alcohol withdrawal on the expression of endocannabinoid system-related genes in the rat amygdala. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 36(6), 984–994. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2011.01686.x>
- Shi, Z. y Müller, H. J. (2013). Multisensory perception and action: development, decision-making, and neural mechanisms. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 7, 81. <https://doi.org/10.3389/fnint.2013.00081>
- Sidhpura, N. & Parsons, L. H. (2011). Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity and addiction-related behavior. *Neuropharmacology*, 61(7), 1070–1087. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.05.034>
- Silveira, M. M., Tremblay, M., Winstanley, C. A. (2018). Dissociable contributions of dorsal and ventral striatal regions on a rodent cost/benefit decision-making task requiring cognitive effort. *Neuropharmacology*, 137, 322–331. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.04.025>

- Simms, J. A., Steensland, P., Medina, B., Abernathy, K. E., Chandler, L. J., Wise, R., y Bartlett, S. E. (2008). Intermittent access to 20% ethanol induces high ethanol consumption in Long-Evans and Wistar rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 32(10), 1816–1823. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00753.x>
- Sink, K. S., Vemuri, V. K., Olszewska, T., Makriyannis, A. y Salamone, J. D. (2008). Cannabinoid CB1 antagonists and dopamine antagonists produce different effects on a task involving response allocation and effort-related choice in food-seeking behavior. *Psychopharmacology*, 196(4), 565–574. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0988-4>
- Smail-Crevier, R. L., Maracle, A. C., Wash, S. I. J. y Olmstead, M. C. (2018). Binge-like intake of sucrose reduces the rewarding value of sucrose in adult rats. *Psychology and Behavior*, 194, 420–429. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.06.027>
- Sosa, R. y Dos Santos, C. V. (2018). Toward a Unifying Account of Impulsivity and the Development of Self-Control. *Perspectives on Behavior Science*, 42(2), 291–322. <https://doi.org/10.1007/s40614-018-0135-z>
- Spear, L. P. (2016). Consequences of adolescent use of alcohol and other drugs: Studies using rodent models. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 70, 228–243. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.07.026>
- Sprow, G. M. y Thile, T. E. (2012). The neurobiology of binge-like ethanol drinking: Evidence from rodent models. *Physiology and Behavior*, 106(3), 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.12.026>
- Suárez-Ortiz, J. O., Cortés-Salazar, F., Malagón-Carrillo, A. L., López-Alonso, V. E., Mancilla-Díaz, J. M., Tejas-Juárez, J. G. y Escartín-Pérez, R. E. (2018). Intra-accumbens raclopride

administration prevents behavioral changes induced by intermittent access to sucrose solution. *Frontiers in Neuroscience*, 12(74).

<http://www.dx.doi.org/10.14718/ACP.2014.17.2.7>

Tabakoff, B. y Hoffman, P. L. (2013). The neurobiology of alcohol consumption and alcoholism: An integrative history. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 113, 20–37.

<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.10.009>

Thiele, T. E. y Navarro, M. (2013). “Drinking in the Dark” (DID) procedures: A model of binge-like ethanol drinking in non-dependent mice. *Alcohol*, 48(3), 235–241.

<https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2013.08.005>

Treasure, J., Duarte, T. A., y Schmidt, U. (2020). Eating disorders. *Lancet (London, England)*, 395(10227), 899–911. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30059-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30059-3)

Udo, T. y Grilo, C. M. (2018). Prevalence and Correlates of DSM-5-Defined Eating Disorders in a Nationally Representative Sample of U.S. Adults. *Biological Psychiatry*, 84(1), 345–

354. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.03.014>

van Gaalen, M. M., van Koten, R., Schoffelmeer, A. N. y Vanderschuren, L. J. (2006). Critical involvement of dopaminergic neurotransmission in impulsive decision making.

Biological Psychiatry, 60(1), 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.06.005>

Volkow, N. R., Wise, R. A., y Baler, R. (2017). The dopamine motive system: implications for drug and food addiction. *Nature Reviews*, 18(12), 741–752.

<https://doi.org/10.1038/nrn.2017.130>

- Walton, M. E., Bannerman, D. M., Alterescu, K. y Rushworth, M. F. S. (2003). Functional Specialization within Medial Frontal cortex of the Anterior Cingulate for Evaluating Effort-Related Decisions. *Journal of Neuroscience*, 23(16), 6475–6479.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-16-06475.2003>
- Wang, G.J., Tomasi, D., Convit, A., Logan, J., Wong, C., Shumay, E., Fowler, J. y Volkow, N. (2014). BMI Modulates Calorie-Dependent Dopamine Changes in Accumbens from Glucose Intake. *PLoS one*, 9(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101585>
- Williams, K. L., Nickel, M. M. y Bielak, J. T. (2018). Oral binge-like ethanol pre-exposure during juvenile/adolescent period attenuates ethanol-induced conditioned place aversion in rats. *Alcohol and Alcoholism*, 53(5), 518–525. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agy040>
- Wilmouth, C. E. y Spear, L. P. (2009). Hedonic sensitivity in adolescent and adult rats: taste reactivity and voluntary sucrose consumption. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 92(4), 566–573. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2009.02.009>
- Winstanley, C. A. y Floresco, S. B. (2016). Deciphering decision making: Variation in animal models of effort- and uncertainty-based choice reveals distinct neural circuitries underlying core cognitive processes. *The journal of Neuroscience*, 36(48), 12069–12079.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1713-16.2016>
- Wong, A., Dogra, V. y Reichelt, A. (2017). High-sucrose diets in male rats disrupt aspects of decision-making tasks, motivation and spatial memory, but not impulsivity measure by operant delay-discounting. *Behavioral Brain Research*, 327, 144–154.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.03.029>

- Worbe, Y., Irvine, M., Lange, I., Kundu, P., Howell, N. A., Harrison, N. A., Bullmore, E. T., Robbins, T. W. y Voon, V. (2014). Neuronal correlates of risk-seeking attitudes to anticipated losses in binge drinkers. *Biological Psychiatry*, 76(9), 717–724.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.11.028>
- Yao, Y. W., Song, K. R., Schuck, N. W., Li, X., Fang, X. Y., Zhang, J. T., Heekeren, H. R., y Bruckner, R. (2023). The dorsomedial prefrontal cortex represents subjective value across effort-based and risky decision-making. *NeuroImage*, 279, 120326.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2023.120326>
- Yarmolinsky, D. A., Zuker, C. S. y Ryba, N. J. P. (2009) Common sense about taste: from mammals to insects. *Cell*, 139(2), 234–244. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.10.001>
- Yeomans, M. R. (2010). Alcohol, appetite and energy balance: is alcohol intake a risk factor for obesity? *Physiology & Behavior*, 100(1), 82–89.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.01.012>
- Zeeb, F. D., Robbins, T. W. y Winstanley, C. A. (2009). Serotonergic and dopaminergic modulation of gambling behavior as assessed using a novel rat gambling task. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 34(10), 2329–2343. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.62>
- Zhang, W. (2020). Neural Circuits for Reward. En H. Wang (Ed.), *Neural Circuits of Innate Behaviors* (Vol. 1284, pp. 35–41). Springer Singapore.
- Ziauddeen, H., Chamberlain, S. R., Nathan, P. J., Koch, A., Maltby, K., Bush, M., Tao, W. X., Napolitano, A., Skeggs, A. L., Brooke, A. C., Cheke, L., Clayton, N. S., Sadaf Farooqi, I., O'Rahilly, S., Waterworth, D., Song, K., Hosking, L., Richards, D. B., Fletcher, P. C., y

Bullmore, E. T. (2013). Effects of the mu-opioid receptor antagonist GSK1521498 on hedonic and consummatory eating behaviour: a proof of mechanism study in binge-eating obese subjects. *Molecular Psychiatry*, 18(12), 1287–1293.

<https://doi.org/10.1038/mp.2012.154>