



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

# **Evaluación de la conducta adictiva al etanol en ratones con lesión trigeminal**

TESIS

Que para obtener el título de:  
Cirujano Dentista

PRESENTA

Jahaziel Eloy García Gama

Director: Dr. Isaac Obed Pérez Martínez

Dictaminadores: Dra. Ana Lilia García Hernández

C.D. Claudia Daniela Montes Ángeles



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo. de México, 2019



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.

## Contenido

RESUMEN	4
MARCO TEÓRICO	5
DOLOR	5
Corteza Prefrontal (PFC)	6
Infralimbica y prelimbica	7
Corteza anterior cingulada (ACC)	7
Amígdala	8
Núcleo Accumbens (NAc)	9
Hipocampo	9
Corteza Somatosensorial 1-2	11
Tálamo	11
Sustancia Gris Periacueductal (PAG)	11
ADICCIÓN	12
Atracón / intoxicación	14
Abstinencia / afecto negativo	14
Preocupación / anticipación (ansiedad)	14
ADICCIÓN AL ETANOL	15
ANTECEDENTES	16
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
JUSTIFICACIÓN	20
HIPÓTESIS	21
OBJETIVO GENERAL	21
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
METODOLOGÍA	22
Animales	22
Lesión del nervio mentoniano	22
Evaluación sensorial del desarrollo de dolor neuropático crónico	23
Evaluación de sensibilidad inicial al consumo de etanol	23
Evaluación de ensayos de preferencia de etanol	24
RESULTADOS	25
- La constricción del nervio mentoniano produce hiperalgesia ante estímulos mecánicos	25
- El grupo con lesión trigeminal disminuye su sensibilidad inicial a la concentración de etanol más alta (40%)	26

- El grupo con cirugía y el grupo sham muestran una mayor preferencia por la concentración de etanol al 20%	27
- El cambio en el consumo no se debe a cambios en el componente motor del lengüeteo	29
- El grupo de ratones con lesión trigeminal, muestra una tendencia compulsiva en el consumo de etanol a la concentración más alta.	30
DISCUSIÓN	36
CONCLUSIONES	38
PERSPECTIVAS	39
GLOSARIO	40
BIBLIOGRAFÍA	42

## **RESUMEN**

El dolor crónico neuropático, es un tipo de dolor potencialmente incapacitante que puede ser causado por una enfermedad o alguna lesión en el sistema nervioso somatosensorial, médula espinal, o una serie de condiciones crónicas como infecciones virales (neuralgia post-herpética), enfermedades autoinmunes, cáncer y desórdenes metabólicos (diabetes mellitus). Por otro lado, el abuso en el consumo de alcohol, también presenta un impacto negativo en la población, ya que es causante de alteraciones biológicas (enfermedades agudas y crónicas), psicológicas (neurotoxicidad, trastornos cognitivos) y sociales (problemas con el establecimiento de relaciones sociales). Existen evidencias que sugieren que el dolor crónico puede ser un factor de riesgo importante en el desarrollo del abuso en el consumo de alcohol. Este proyecto es de importancia para el aporte de nuevos datos hacia el estudio de las adicciones, el dolor y la comorbilidad que existe entre ambas, para mejorar el entendimiento de los procesos neuroadaptativos y las alteraciones sensoriales, emocionales, cognitivas y sociales que se presentan junto con el desarrollo de ambas condiciones. Se pretende evaluar la perseverancia por el consumo de etanol cuando se aplica un estímulo térmico nocivo en ratones con y sin lesión trigeminal, a través de una tarea conductual de evitación y escape.

## MARCO TEÓRICO

### DOLOR

Durante siglos se ha intentado englobar la complejidad y multitud de aspectos y variantes que presenta el dolor. Se han propuesto una gran variedad de definiciones, que lo único que refleja, es la enorme dificultad para encontrar una definición exacta. Esto se debe a que el dolor siempre será subjetivo por el hecho de que cada individuo aplica de diferente manera el término, con base a sus propias experiencias. (Crofford, 2015).

La definición más aceptada actualmente es la de la Asociación Mundial para el Estudio del Dolor (IASP): <<es una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular, real o potencial, o descrita en términos de dicho daño>>. (IASP: «Subcommittee on Taxonomy. Pain terms: a list with definitions and notes on usage», Ram, 1979, 6: 249-252)

El dolor es un mecanismo de protección que tiene un valor importante en la supervivencia de los seres vivos, para detectar y responder ante una lesión, sirve como una advertencia al organismo de que existe un riesgo, que algo no está bien; advierte de eventos o sucesos que provocaron daño anteriormente, cómo evitarlos en el futuro y motiva a terminar con ese estímulo. (Fenton, Shih, & Zolton, 2015)

Es una sensación percibida en una o varias partes del cuerpo, pero es importante mencionar que no es placentera y que, por lo tanto, es una experiencia emocional negativa. Abarca 4 dimensiones: la dimensión sensorial (la ubicación e intensidad), la dimensión emocional (¿qué tan desagradable es la experiencia para el individuo?), dimensión cognitiva (¿cómo el individuo interpreta el dolor? Miedo, ansiedad. ¿cómo responde el individuo?) y una dimensión social. Los factores cognitivos y emocionales son importantes en la percepción del dolor, y esta relación se da por la conectividad de las regiones cerebrales que controlan los estados emocionales, las expectativas, la atención y la percepción del dolor. (Crofford, 2015).

El dolor crónico, no tiene un propósito adaptativo. Anteriormente se proponía que todo dolor que permaneciera más de 3 meses era clasificado como crónico. La IASP lo define como “dolor sin ningún rol biológico aparente y que ha persistido más que el tiempo de curación normal de un tejido”. (IASP: «Snbcommittee on Taxonomy. Pain terms: a list with definitions and notes on usage>~, Ram, 1979, 6: 249-252)

Se ha propuesto que el dolor crónico es una “persistencia de la memoria del dolor y/o la inhabilidad de extinguir esa memoria del dolor provocado por una lesión inicial y persiste más allá del tiempo de curación de la lesión” pero es difícil determinar el tiempo de curación, ya que es diferente para cada condición.

Apkarian y cols. Proponen que la definición de la cronicidad depende del tipo de dolor crónico y debería ser determinado funcionalmente de manera diferente para cada tipo, basándose en los mecanismos de reorganización o plasticidad central y periférica, en cada condición. (Apkarian, Baliki, & Geha, 2009).

El dolor crónico desencadena tres principales síntomas a nivel periférico: dolor espontáneo, alodinia e hiperalgesia.

Las principales regiones corticolímbicas del cerebro que están relacionadas con la predicción, amplificación y desarrollo de dolor crónico son, la corteza prefrontal, amígdala, el núcleo accumbens el hipocampo, corteza anterior cingulada y la corteza insular. (Thompson & Neugebauer, 2019)

### **Corteza Prefrontal (PFC)**

Se ha observado que la corteza prefrontal regula la expresión y supresión del miedo. Es importante para las funciones de ejecución y toma de decisiones. Un mal funcionamiento de ésta podría provocar un aumento en la impulsividad, una disminución en el control sobre comportamientos sociales y una incapacidad para tomar decisiones. (Giustino & Maren, 2015).

En los ratones, se divide en infralímbica, prelímbica y corteza anterior cingulada. (Vogt & Paxinos, 2014).

### **Infralímbica y prelímbica**

Estas dos regiones reciben proyecciones del tálamo, amígdala basolateral (BLA) (neuronas GABAérgicas), hipocampo y la corteza prefrontal medial contralateral. Ambas, envían proyecciones excitatorias a la amígdala. La corteza prelímbica envía proyecciones principalmente a la amígdala basolateral, mientras que la corteza infralímbica envía a la amígdala basolateral, la amígdala lateral (LA) y a la masa de células intercaladas de la amígdala (ITC). (Giustino & Maren, 2015).

Se piensa que la proyección de la corteza infralímbica, hacia ITC, pasando o no por BLA es importante en la extinción del miedo. (Duvarci & Pare, 2014).

### **Corteza anterior cingulada (ACC)**

Es una estructura límbica que contribuye a aspectos afectivos/emocionales del dolor y es importante para la percepción del dolor, el dolor crónico y también está relacionada con desórdenes emocionales. (Chen et al., 2018).

ACC recibe información nociceptiva del núcleo medial del tálamo, lo que permite su contribución en el procesamiento del dolor. Esta información nociceptiva es integrada con la información afectiva y emocional proveniente de la corteza insular (IC), mPFC y BLA, para generar respuestas mediadas del dolor. (Bushnell, Ceko, & Low, 2013).

Estudios de neuroimagen que evalúan los efectos de los estados emocionales en el procesamiento del dolor, demuestran que los estados emocionales negativos que se producen al escuchar música desagradable, percibir olores desagradables y observar señas emocionales desagradables, también alteran la actividad de ACC. (Villemure & Bushnell, 2009).

ACC y la sustancia gris periacueductal (PAG) son estructuras que son activadas en anticipación a un estímulo nocivo. La activación del circuito ACC-PFC-PAG

está asociada con un aumento de la emoción negativa y el aumento de la actividad en ACC. (Bushnell et al., 2013)

## **Amígdala**

Es una estructura límbica relacionada con las respuestas emocionales y los estados afectivos, con desórdenes como el miedo aprendido, ansiedad y depresión. También se le considera una región importante para la dimensión afectiva-emocional y la modulación del dolor. (Neugebauer, 2015).

La amígdala se conforma por cuatro núcleos, el lateral (LA), basolateral (BLA), central (CeA) y la masa de células intercaladas (ITC). La región de entrada de la información nociceptiva del tálamo, la corteza insular, corteza anterior cingulada y corteza prefrontal media, está formada por los núcleos LA-BLA. (Marek, Strobel, Bredy, & Sah, 2013).

Las proyecciones de BLA a mPFC proporcionan información basada en la emoción y el valor. (McGaugh, 2004). Este núcleo contiene neuronas que responden con mayor preferencia a los estímulos nocivos. La mayor parte de la información que se genera en LA-BLA es transmitida a CeA, que envía proyecciones a los sistemas moduladores del dolor a través del cerebro anterior y del tronco cerebral. (Neugebauer, 2015).

Las divisiones capsular y lateral del núcleo central (CeLC) recibe información específica nociceptiva de la médula espinal y del tronco cerebral (núcleo parabraquial lateral externo) a través del circuito espino-parabraquio-amigdaloides. (Gauriau & Bernard, 2002).

ITC es un grupo de interneuronas inhibitorias que controlan las proyecciones de salida de la amígdala. (Pape & Pare, 2010).

## **Núcleo Accumbens (NAc)**

Es una estructura del cerebro anterior que está relacionada con los circuitos de la recompensa e integra información afectiva y cortical, proporciona valor y motivación para seleccionar respuestas de comportamiento apropiadas ante un estímulo externo. (Apkarian et al., 2009).

Se ha propuesto que NAc tiene un rol importante como mediador en las disfunciones de los neurocircuitos cerebrales involucrados en la asignación de saliencia y valor, que se piensa que están relacionadas con la transición de dolor agudo a dolor crónico. (Thompson & Neugebauer, 2019).

NAc en los humanos está dividido en dos subregiones, el núcleo y la corteza; las cuales tienen diferente conectividad estructural a PFC y a regiones límbicas subcorticales, por lo tanto, también presentan diferentes funciones. La corteza de NAc evalúa el dolor inminente y utiliza información del hipocampo para el aprendizaje apetitivo, mientras que el núcleo se activa con la expectativa de alivio ante un estímulo aversivo y señala el valor de la recompensa de la cesación del dolor, también utiliza información de BLA para el aprendizaje apetitivo. (Baliki et al., 2013).

Se han identificado alteraciones en el circuito de NAc como factores de riesgo independientes para el desarrollo de dolor crónico. La conectividad entre NAc y PFC puede predecir la progresión a dolor crónico. La disminución de la densidad de la materia gris de NAc y la degradación de conectividad se relaciona con la aparición de dolor espontáneo. (Hashmi et al., 2013).

## **Hipocampo**

Es una región límbica que tiene un rol importante en la memoria “episódica” y “declarativa”, que son términos que definen nuestra capacidad de recordar eventos específicos y hechos a través de esfuerzos directos que nos permiten acceder a las memorias a través del recuerdo consciente. Tenemos la capacidad de reconocer un

estímulo previamente experimentado a través del recuerdo del estímulo, la experiencia y la familiaridad en la que se experimentó el estímulo. (Eichenbaum, 2017).

También se sabe que interviene en emociones presentes en la ansiedad y la depresión. El volumen de la masa hipocampal está disminuido en pacientes con depresión, y los volúmenes bajos pueden aumentar el riesgo de desórdenes depresivos. (Barkus et al., 2010). Se han observado comportamientos de ansiedad en ratas con lesión en el hipocampo.

Se describe como una región importante en la contextualización, condicionamiento y extinción del miedo, ya que se ha visto que los pacientes con mayor volumen de masa hipocampal muestran más conciencia del miedo. (Cacciaglia, Pohlack, Flor, & Nees, 2015).

Está formada por el Cornu Ammonis (CA1-3) y el Giro Dentado (DG), en donde se propone que se lleva a cabo la neurogénesis del hipocampo. También está dividida en una subregión ventral, implicada en las emociones, y una dorsal, implicada en la memoria espacial y el aprendizaje. (Thompson & Neugebauer, 2019).

La subregión ventral recibe información directa de BLA e información indirecta de mPFC importante para la memoria episódica y recuperación del contexto. Y la información que envía a mPFC es importante para la expresión de la ansiedad y la contextualización de la memoria. (Hoover & Vertes, 2007). También envía proyecciones excitatorias a NAc que provocan comportamientos depresivos en un modelo de estrés crónico. (Bagot et al., 2015).

El dolor es asociado con estados aversivos emocionales y déficits en la memoria y el aprendizaje, por lo que el hipocampo puede estar asociado con ambas condiciones en un estado de dolor crónico.

## **Corteza Somatosensorial 1-2**

Estas regiones codifican información sensorial, como la localización y duración del dolor. (Bushnell et al., 2013).

El grupo de neuronas con pequeños campos receptivos, proveen información acerca de la localización, la intensidad y los atributos temporales de un estímulo nocivo (aspectos sensoriales discriminativos del dolor). Mientras que el grupo de neuronas con largos campos receptivos proveen información acerca de la ocurrencia y la intensidad del estímulo térmico nociceptivo, son más adecuados para llevar a cabo la activación cortical y los ajustes motores producidos por una estimulación nociva. (Kenshalo Dr Jr Fau - Isensee & Isensee, 1983).

## **Tálamo**

Es una estructura considerada como la puerta de entrada a la corteza cerebral ya que las entradas somatosensoriales de enlace cortical, se transmiten a través del tálamo. Las entradas nociceptivas provenientes de la piel, estructuras profundas y órganos viscerales convergen en el tálamo y se dirigen a la corteza cerebral. (Yen & Lu, 2013).

Se divide, de acuerdo a su desarrollo embriológico, en tres partes: el epitálamo, tálamo dorsal (parte principal que conecta con la corteza cerebral) y tálamo ventral. El núcleo reticular del tálamo, es un núcleo GABAérgico proyecta al tálamo dorsal para modular el flujo de información. (Yen, Conley, Hendry, & Jones, 1985).

Las estructuras relacionadas con la corteza somatosensorial se pueden dividir en subdivisiones lateral (núcleo posterior ventral (VP) y núcleo posterior (PO)); y medial (núcleo intralaminar (ILN), núcleo dorsal medial (MD) y núcleos de la línea media). (Yen & Lu, 2013).

## **Sustancia Gris Periacueductal (PAG)**

Está localizada en el tallo cerebral, tiene un papel importante en la modulación ascendente y descendente del dolor, se debe a que tiene proyecciones hacia lo

medula rostroventral (RVM), y el locus coeruleus (LC), los cual enviarán proyecciones inhibitorias o facilitadoras hacia el cuerno dorsal de la médula espinal. (Hemington & Coulombe, 2015).

PAG recibe entradas de ACC, PFC y la amígdala, y se sugiere que este sistema descendente puede ser activado por factores psicológicos. El tratamiento con placebo altera la actividad endógena de opioides en PAG, ACC y PFC, esto se sabe por los descubrimientos que muestran que la naloxona modula las respuestas inducidas por placebo en la PAG y RVM. (Bushnell et al., 2013).

En individuos con dolor crónico, PAG y LC muestran un aumento de la conectividad funcional en regiones como el hipocampo, NAc y ACC. Estos datos revelan que el dolor crónico está asociado con un funcionamiento continuo alterado dentro del circuito de modulación del dolor. Estos cambios pueden provocar un aumento en la facilitación descendente del procesamiento en la sinapsis primaria, lo que conlleva a un aumento de la transmisión nociceptiva a los centros cerebrales superiores. (Mills et al., 2018).

## **ADICCIÓN**

Se puede definir como un desorden crónico, recidivante, que es caracterizado por comportamientos compulsivos sobre la búsqueda e ingesta de drogas, una pérdida de control en la limitación de la ingesta y la presencia de estados negativos emocionales (ansiedad, irritabilidad, depresión, etc.) cuando se impide el consumo de éstas. (Koob & Volkow, 2016).

Koob y Le Moal (2008) lo definen como un ciclo de función disminuida de los sistemas cerebrales de recompensa y el aumento de los sistemas de anti-recompensa que empeoran progresivamente y desencadenan el uso compulsivo de drogas.

El concepto de “sistema anti-recompensa” explica el componente de las neuroadaptaciones dependientes del tiempo en respuesta a la excesiva utilización del sistema cerebral de recompensa. El sistema de recompensa se define como la

activación de los circuitos implicados en el reforzamiento positivo con una valencia hedónica positiva. El déficit de este sistema, que proporciona una valencia hedónica negativa, junto con el reclutamiento de los sistemas cerebrales de estrés, que también proporcionan valencia hedónica negativa, proporcionan un potente estado motivacional mediado por el sistema anti-recompensa. (Koob & Le Moal, 2008).

Otra definición de la adicción, es la que incluye dos términos importantes en este desorden, la impulsión y la compulsión. Y la definen como una progresión de un comportamiento impulsivo a uno compulsivo, finalizando en la ingesta crónica y recurrente de una droga. (Koob & Le Moal, 2005).

La impulsividad es un desorden multifacético que se caracteriza por la incapacidad de resistir una acción o un impulso, por la gratificación tardía, la toma de decisiones irreflexivas y el comportamiento prematuro. (Berlin & Hollander, 2014).

Es una tendencia a actuar sin prevenir o analizar las consecuencias y se asocia con mayor frecuencia a patologías como la dependencia de sustancias y Trastorno de déficit de atención e hiperactividad. (Dalley, Everitt, & Robbins, 2011).

La compulsividad es caracterizada por actos repetitivos y perseverativos que se consideran excesivos o inapropiados para una situación. El comportamiento compulsivo se considera como rumiante, de naturaleza rígida y estereotipada. (Berlin & Hollander, 2014).

Existen diferencias entre las sintonías del ego, ya que los comportamientos impulsivos se encuentran comúnmente asociados con sentimientos de placer y gratificación, por lo que se les considera egosintónicos; pero los comportamientos compulsivos normalmente se asocian a una reducción de la tensión de pensamientos obsesivos y son altamente egodistónicos. (el-Guebaly, Mudry, Zohar, Tavares, & Potenza, 2012).

El comportamiento impulsivo se relaciona con una devaluación del riesgo, mientras que el compulsivo se relaciona con el aprendizaje de hábitos de estímulo-respuesta. (Berlin & Hollander, 2014).

En el 2013, la DSM-5, unió dos conceptos que antes estaban establecidos de manera diferente y separados por jerarquías: el abuso de sustancias y la dependencia a sustancias; en un solo concepto, definiendo los “desórdenes en el uso de sustancias” en un rango de leve, moderado y grave, según la cantidad de criterios establecidos que apliquen. (Koob & Volkow, 2016).

La adicción puede ser considerada como un ciclo recurrente de 3 periodos que empeoran con el tiempo y provocan neuroplasticidad en los sistemas cerebrales de funciones ejecutivas, de recompensa y del estrés. Estos periodos son:

### **Atracón / intoxicación**

Las drogas activan los neurocircuitos de recompensa (reforzamiento positivo). La recompensa se define como cualquier evento que aumente la probabilidad de una respuesta con un componente hedónico positivo. Se ha demostrado que la intoxicación por alcohol y drogas activan los sistemas ascendentes dopaminérgicos mesocorticoestriados. (Wise, 2009).

### **Abstinencia / afecto negativo**

Consiste en elementos motivacionales como la irritabilidad, el dolor emocional, disforia, malestar, alexitimia, estrés y pérdida de la motivación para obtener recompensas. En los modelos animales, esta etapa se caracteriza por la elevación de los umbrales de recompensa (reforzamiento negativo). (Koob et al., 2014).

### **Preocupación / anticipación (ansiedad)**

Se le considera como una etapa clave en la recaída en el uso de drogas y define la adicción como un trastorno crónico recurrente. También se ha relacionado con la ansiedad, la cual no siempre se correlaciona con la recaída. (Koob & Volkow, 2016).

## **ADICCIÓN AL ETANOL**

El etanol (alcohol etílico), es un alcohol que en condiciones normales de presión y temperatura se presenta en un estado líquido, incoloro, de olor característico, que se obtiene por destilación de productos de fermentación de sustancias azucaradas o feculentas.

Se descubrió como el primer agente psicofarmacológico y su producción se remonta a los años 8000 a.C. El uso de esta sustancia ha aumentado en los últimos siglos, debido a los avances en los métodos de destilación y la producción de bebidas con un alto contenido de éste. (Gately, 2008).

Es una de las drogas con mayor consumo. A pesar de que se la han atribuido factores genéticos y ambientales a la etiología del desorden en el uso de alcohol, son las acciones del etanol a nivel cerebral lo que explica cambios agudos en el comportamiento (relacionados al etanol), como efectos estimulantes seguidos de efectos depresivos, y cambios crónicos en el comportamiento como el aumento de consumo, tolerancia, ingesta compulsiva y dependencia.

El proceso de la dependencia de alcohol se ha conceptualizado como un progreso del consumo controlado de alcohol a un consumo compulsivo, o un cambio de la ingesta de alcohol por placer a un comportamiento de búsqueda compulsiva de alcohol. (Esel & Dinc, 2016).

El “Desorden en el uso de alcohol, (AUD)”, se define como un desorden crónico recurrente que involucra la búsqueda y el consumo compulsivo de alcohol, pérdida de control en la ingesta de alcohol y la aparición de estados emocionales negativos durante el periodo de abstinencia. (Mason, 2017).

El AUD, al igual que la adicción a cualquier droga, consta de un ciclo de 3 periodos: el atracón/intoxicación, la abstinencia/efecto negativo y la preocupación/anticipación; que involucra la disfunción en la recompensa, el estrés y

la función de ejecución, causada por los cambios en los neurocircuitos. (Koob & Volkow, 2016).

## **ANTECEDENTES**

Kelly Lei y cols. (2016), demostraron que los ratones de la cepa C57BL/6 desarrollan de manera rápida una resistencia a la aversión al consumo de alcohol, a través de un ensayo simple de una sola sesión, a comparación de los ensayos con rata, las cuales requieren un de consumos intermitentes durante meses para desarrollar resistencia a esta aversión. (Lei, Wegner, Yu, Simms, & Hopf, 2016).

Los paradigmas de autoadministración de etanol son de suma importancia para el estudio de los circuitos neuronales implicados en la búsqueda y el consumo de etanol y para entender las bases neuronales implicadas en el desorden en el uso de alcohol.

Mariah B. Blegen y cols. (2018), realizaron un estudio en ratones sobre el valor predictivo de dos modelos operantes de autoadministración de alcohol por vía oral. Uno en el cual el alcohol era liberado en una copa después de cada respuesta (nose-poke), sin una medición precisa de la solución de alcohol consumida. Otro paradigma que libera alcohol a través de un tubo de succión después de presionar una palanca en donde se puede medir el radio de lengüeteos y el volumen de alcohol consumido. Con este estudio demostraron que solamente los paradigmas que permiten las mediciones precisas del alcohol consumido y los radios de lengüeteos son modelos válidos de autoadministración de alcohol, ya que el consumo compulsivo puede ser determinado con precisión, basándose en los cambios del consumo de alcohol. (Blegen et al., 2018).

Comúnmente, hay 2 tipos de pruebas de conducta para medir el dolor y las respuestas de comportamientos relacionadas con el dolor, pruebas que miden la sensibilidad al dolor a un estímulo aplicado y pruebas que asocian el dolor con el ambiente o la situación. Las respuestas de comportamiento a un estímulo

nociceptivo periférico pueden ser medidas aplicando estimulación eléctrica, térmica, mecánica o química al animal. (Le Bars D. 2001. Robinson D. 2002).

Las respuestas de comportamiento nociceptivas medidas durante la prueba, incluyen el lengüeteo o el salto (prueba de hot plate) (Eddy NB. 1953. Mauderli AP. 2000. Woolfe G. 1944), la retirada de la cola (D'Amour FE. 1941. Smith DL. 1943.) o retirada de la pata (Hargreaves K. 1988.).

Hoy Ki Ding y cols. (2005) elaboraron un paradigma en donde combinaron los principios de un paradigma de evitación activa con una placa caliente, para desarrollar un método simple para estudiar las memorias aversivas sin alterar los umbrales nociceptivos del animal. En este paradigma, primero midieron las latencias de las respuestas nociceptivas a la placa caliente y la latencia para escapar a la plataforma adyacente. Las latencias de escape disminuyeron después de la constante exposición a la placa caliente; pero, las latencias de respuestas nociceptivas no fueron alteradas cuando se midieron después del entrenamiento de placa caliente. Finalmente, examinaron la amplitud de este comportamiento de escape aprendido midiendo las latencias de escape durante unas series de pruebas de extinción. (Ding, H. K. 2015).

Naomi Yoneyama y cols. (2018) realizaron un estudio comparando 22 diferentes cepas de ratones para establecer cuál mostraba mayor preferencia y consumo de etanol. Colocaron a los ratones en cajas diferentes y les dieron acceso ilimitado durante 4 días en una prueba de elección de dos botellas, una con agua y la otra con etanol a diferentes concentraciones (3%, 6% y 10%). Demostraron que la cepa C57BL/6 exhibía la mayor preferencia y el mayor consumo para todas las soluciones de etanol que utilizaron. (Yoneyama, 2008). (Voluntary ethanol consumption...)

Koral Goltseker y cols. (2018), propusieron que todos los individuos tienen la capacidad de exhibir resistencia a la aversión al etanol, pero el nivel de compulsión

(evaluado por la magnitud de adversidad tolerada durante la intoxicación) varía con los individuos y depende de las condiciones y parámetros del experimento, permitiendo al investigador decidir sobre el umbral.(Goltseker, Hopf, & Barak, 2019).

Se ha demostrado que las vías sensoriales del dolor comparten las mismas regiones involucradas en el estado de ánimo, incluyendo la IC, PFC, ACC, tálamo, hipocampo y amígdala. (Sheng, J. 2017). Las vías emocionales y de recompensa que regulan la adicción a las drogas y al alcohol también median el dolor crónico.

La conducta adictiva provoca cambios en los canales iónicos y en los receptores glutamatérgicos, GABAérgicos, dopaminérgicos y serotoninérgicos, alterando la unión y causando un desequilibrio en la respuesta neuronal. (de Paiva Lima et al., 2017).

Mark Egli y cols. (2012), propusieron un modelo en el que describen un solapamiento de los neurocircuitos con alteraciones afectivas y sensoriales provocadas por dolor y los neurocircuitos con alteraciones funcionales provocadas por episodios de intoxicación y abstinencia al etanol, dolor crónico, estrés y otras alteraciones. (Egli, Koob, & Edwards, 2012)

Debido a que el dolor crónico causa estrés emocional y provoca un estado emocional negativo, hiperalgesia asociada a estados de dolor persistente o al consumo excesivo de alcohol, puede ser considerada una condición asociada con el desarrollo de alcoholismo, facilitando los procesos de reforzamiento negativos.

Se ha establecido que existe una alteración del circuito de la recompensa (NAc-mPFC) durante una conducta adictiva. Estudios recientes, sugieren que este circuito también está involucrado en la transición de dolor agudo a dolor crónico. Un descubrimiento importante durante la transición del consumo ocasional de drogas a una conducta adictiva es el fortalecimiento de la conectividad funcional entre mPFC y NAc y un aumento en la transmisión glutamatérgica. (A. V. Apkarian et al., 2013).

Un estudio hecho por González-Sepúlveda y cols. En un modelo murino de dolor neuropático propuso que la ligación parcial del nervio ciático resultaba en un incremento en el consumo de alcohol y comportamientos de ansiedad y depresión (Gonzalez-Sepulveda, Pozo, Marcos, & Valverde, 2016).

Una asociación entre éstas dos condiciones han sido propuestas en numerosos estudios, con resultados de abuso en el consumo de alcohol antecediendo al dolor crónico y viceversa. Se propone que éstas comparten circuitos neuronales en común, dando lugar a la posibilidad de que los estados de dolor crónico pueden afectar significativamente los patrones de consumo del alcohol y que ésta puede influenciar la sensibilidad al dolor. En adición, la neuroplasticidad de la amígdala y el aumento de salida de las señales de la amígdala está asociada con la alteración del proceso cognitivo en mPFC en el dolor crónico. El desequilibrio y reorganización de las interacciones entre la amígdala y mPFC pueden, no solamente ser importantes para la persistencia del dolor, sino también para los desórdenes caracterizados por la persistencia anormal de estados afectivos-emocionales como la adicción a las drogas o al alcohol. (A. Vania Apkarian et al., 2013).

Las etapas de los neurocircuitos corresponden a 3 etapas funcionales: la embriaguez o intoxicación (recompensa y saliente incentiva: ganglios basales), el efecto negativo o de retiro (estados emocionales negativos y estrés: amígdala y habénula), la preocupación o anticipación (ansiedad, impulsividad y funciones de ejecución: PFC, ínsula y la alo corteza). (Koob & Volkow, 2016).

En este proyecto primero se evaluó la conducta de adicción, mediante pruebas de sensibilidad inicial al consumo de etanol y la preferencia hacia el consumo de etanol comparada con el consumo de agua. También se evaluó la capacidad de evitar o escapar ante un estímulo térmico nocivo mediante un paradigma de evitación-escape. Se caracterizó la relación que existe entre la conducta de adicción al etanol y los cambios conductuales que desencadena la presencia de dolor crónico neuropático. Con este modelo murino de lesión trigeminal por constricción del

nervio mentoniano y este paradigma de evitación y/o escape con la aplicación de un estímulo térmico aversivo, se podrían realizar investigaciones posteriores para la identificación de los subcircuitos que establecen esta comorbilidad y proponer nuevos medicamentos o tratamientos que tengan como propósito reducir o eliminar el abuso de alcohol en pacientes con dolor crónico.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El dolor crónico es uno de los problemas de salud más prevalentes a nivel mundial. A nivel clínico, se ha observado que los pacientes con alteraciones en el consumo de alcohol son más propensos a reportar condiciones de dolor. Existen evidencias que sugieren que el dolor puede ser un factor de riesgo importante en el desarrollo del abuso en el consumo de alcohol. Estas 2 condiciones se han estudiado de manera individual, pero no ha quedado bien establecido el desarrollo de esta conducta a partir de la alteración de los neurocircuitos que transmiten y procesan el dolor. Este proyecto pretende establecer la relación entre las alteraciones en la conducta de tipo adictiva y la presencia de dolor crónico neuropático orofacial. Comprender conductualmente esta comorbilidad es importante para la prospectiva de este proyecto, que es identificar los circuitos neuronales que están involucrados y los diferentes posibles tratamientos que se puedan aplicar para cada una de estas condiciones, que tienen un gran impacto en la salud pública.

## **JUSTIFICACIÓN**

El abuso en el consumo de etanol es uno de los problemas de salud más comunes a nivel mundial. El AUD tiene un impacto negativo en la población, que incluyen problemas biológicos (enfermedades agudas y crónicas), psicológicos (neurotoxicidad, trastornos cognitivos) y sociales (problemas con el establecimiento de relaciones sociales). Este desorden también afecta de manera considerable los recursos de salud pública. Según la Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco 2016-2017; el 19.8% (16.8 millones) de la población presentó

consumo excesivo de alcohol y demostraron que este problema ha presentado aumentos significativos con respecto al año 2011. El 8.3% (1.1 millones) de la población adolescente también presentaron consumo excesivo.

Según la OMS, el consumo de alcohol es el tercero de los principales factores de riesgo de enfermedades y discapacidad; en el mundo 320,000 jóvenes entre 15 y 29 años mueren por causas que se relacionan con el alcohol. En México, el desorden en el consumo de alcohol es la cuarta causa de muerte de la población.

Por lo tanto, este proyecto es de importancia para el aporte de nuevos datos hacia el estudio de las adicciones, el dolor y la comorbilidad que existe entre ambas, para mejorar el entendimiento de los procesos neuroadaptativos y las alteraciones sensoriales, emocionales, cognitivas y sociales que se presentan junto con el desarrollo de ambas condiciones.

## **HIPÓTESIS**

Existen alteraciones en la conducta adictiva al etanol en ratones con dolor crónico neuropático orofacial inducido por lesión trigeminal.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la perseverancia por el consumo de etanol cuando se aplica un estímulo térmico nocivo en ratones con y sin lesión trigeminal.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar el nivel de hipersensibilidad mecánica inducida por constricción del nervio mentoniano.
- Determinar si la lesión trigeminal produce cambios en la sensibilidad inicial a las diferentes concentraciones de etanol.
- Determinar la concentración de etanol de mayor preferencia por el ratón.

- Determinar si existen cambios en el comportamiento de consumo de las diferentes concentraciones de etanol con la presencia de un estímulo térmico aversivo.

## **METODOLOGÍA**

### **Animales**

Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con las normas del comité de ética de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México (Oficio: CE/FESI/022017/1105) (Anexo1-2). Se utilizaron ratones macho y hembra de la cepa C57/BL6, con un peso inicial de 20 a 30g. Se colocaron en cajas de policarbonato en un cuarto con temperatura de 25°C. Todos los ratones fueron situados en un ciclo invertido de luz 12:12, con la luz encendida a las 8:00 pm y la luz apagada a las 8:00 am. Se dividieron aleatoriamente en dos grupos: el grupo experimental (cirugía de constricción del nervio mentoniano) y el grupo control (cirugía sham). Durante los días que fueron efectuadas las pruebas, los animales fueron privados de agua, con un tiempo no mayor a 24 horas.

### **Lesión del nervio mentoniano**

Los animales fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de una mezcla de ketamina (100mg/kg) con xilacina (8mg/kg). Una vez anestesiados, se afeitaron en la región mentoniana derecha. Posterior a la desinfección de la zona, se realizó una incisión, a nivel de la salida del nervio del foramen, de aproximadamente 0.5cm, perpendicular al cuerpo de la mandíbula. El nervio fue expuesto de los músculos adyacentes para que pudiera ser observado. Una vez que el nervio fue totalmente expuesto, se realizó la hidratación con solución fisiológica. Posteriormente, se realizó la constricción del nervio mediante una ligadura a su alrededor con sutura catgut 5-0. La incisión fue suturada. Para el grupo control (cirugía sham), se llevó a cabo la misma incisión, y una vez que el nervio

mentoniano fue expuesto y aislado, la incisión fue saturada, sin haber ligado el nervio. Los ratones recibieron una inyección intraperitoneal de Enroxil, cada 24 horas por 3 días, se mantuvieron en recuperación durante siete días con alimento y agua *ad libitum* (Yalcin et al., 2014), este es el tiempo que se considera necesario para el desarrollo de dolor neuropático crónico. (Schwartz et al., 2014).

### **Evaluación sensorial del desarrollo de dolor neuropático crónico**

Para evaluar los efectos de la cirugía, se utilizaron los filamentos de von Frey, un tipo de estesiómetro que consiste en un dispositivo hecho de nylon, sostenido perpendicularmente en una base (de Sousa, Ferraresi, de Magalhães, Yoshimura, & Hamblin, 2014) 9 filamentos de von Frey con diferentes cantidades de gramos-fuerza (.4, .6, 1.0, 1.4, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10) fueron aplicados de forma ascendente en la región del nervio mentoniano, de ambos lados de la cara, 5 veces cada filamento. Se calculó la respuesta conductual como se describió previamente. (Yalcin et al., 2014). Las mediciones se llevaron a cabo un día antes de la cirugía, así como los días 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42 posteriores a la cirugía.

### **Evaluación de sensibilidad inicial al consumo de etanol**

Se utilizó una caja de policarbonato transparente, a la cual se le instaló una base de metal conformada por 2 plataformas unidas, debajo de una de las plataformas, se colocó una celda Peltier TEC1-12706 de 40x40 mm, que una vez conectada a una corriente eléctrica, un lado de ésta comenzaba a disminuir su temperatura, mientras que la otra comenzaba a calentarse. El lado que generaba calor estaba en contacto directo con una de las plataformas y así se tenía una plataforma con temperatura caliente (55°C) y otra a temperatura ambiente. Se instalaron 2 sensores de correlación, uno de cada lado de la caja. Del lado de la plataforma caliente se instaló un sistema que consta de 7 válvulas, unidas a un sensor de correlación, de las cuales, 6 liberaron diferentes concentraciones de etanol y 1 liberaba un enjuague. El sistema consistió, en dos plataformas a temperatura ambiente, cada vez que el sensor

detectaba un lengüeteo del ratón, se liberaron 3 microlitros por gota de etanol. Se completaba un ciclo que constaba de 10 segundos de la válvula encendida, a partir del primer lengüeteo, 10 segundos de descanso con la válvula apagada, 1 segundos de enjuague, otros 10 segundos de descanso y posteriormente se volvía a encender la válvula, para que, a partir del primer lengüeteo, permaneciera disponible la liberación de etanol y se repitiera el ciclo, durante un tiempo de 20 minutos por ratón. Con esta tarea, se pudo obtener como resultado, la concentración con mayor aceptación por los ratones.

### **Evaluación de ensayos de preferencia de etanol**

Una vez que se obtuvo la concentración con mayor aceptación, se realizaron los ensayos de preferencia. Se colocaron 2 puertos, a cada lado de la caja y se realizaron 4 pruebas, en las que en un puerto se colocó un bebedero con etanol al 10% y en el otro puerto un bebedero con etanol al 20%, se colocó un ratón en la caja durante 5 minutos, se registró la cantidad inicial, la cantidad final y se obtuvo la cantidad de etanol ingerida; luego se invirtieron los bebederos de puerto y se realizaron los mismos registros, estos pasos se llevaron a cabo con cada uno de los ratones de ambos grupos. Después se cambiaron las concentraciones, etanol al 20% y etanol al 40%, se llevaron a cabo los mismos pasos y se realizaron los mismos registros. Para la otra evaluación sólo quedó disponible el puerto colocado del lado de la placa caliente, se encendió el sistema de la plataforma con la celda Peltier, para que aumentara su temperatura hasta 55°C, se instaló un bebedero. La evaluación constó de 4 sesiones diferentes de 40 minutos cada una, 20 minutos con la plataforma a 55°C y 20 minutos con la plataforma a temperatura ambiente, en cada sesión se utilizó una concentración de etanol diferente (5%, 20% y 40%), se realizó el registro de los lengüeteos y el análisis de su microestructura por cada uno de los ratones de ambos grupos (control y cirugía).

## RESULTADOS

### - **La constricción del nervio mentoniano produce hiperalgesia ante estímulos mecánicos**

El desarrollo de la hiperalgesia por la constricción del nervio mentoniano fue evaluada mediante las pruebas con los filamentos de Von Frey. Ambos grupos de ratones fueron evaluados un día antes y días después de las cirugías. El grupo de ratones constricción del nervio mentoniano no muestra signos de hiperalgesia un día antes de la cirugía, sin embargo, en los días 3, 7, 14, 21 y 28 posteriores a la cirugía presenta un aumento claro en la puntuación ipsilateral en comparación con la contralateral, como se muestra en la *fig.1*. Sin embargo, en los días 35 y 42 deja de mostrar signos de hiperalgesia. Lo que sugiere que la constricción del nervio mentoniano produce hiperalgesia ante la aplicación de estímulos mecánicos, característica del dolor crónico neuropático. Por otro lado, el grupo de ratones sham, solo muestra un aumento en la puntuación ipsilateral en comparación con la contralateral en el día 3 posterior a la cirugía, por lo que podríamos pensar que esta hiperalgesia es causada por la incisión realizada en el momento de la cirugía, ya que en los días posteriores no muestra diferencias ante los estímulos. Las siguientes pruebas se realizaron después del día 42, para evitar la presencia de hiperalgesia en los ratones.

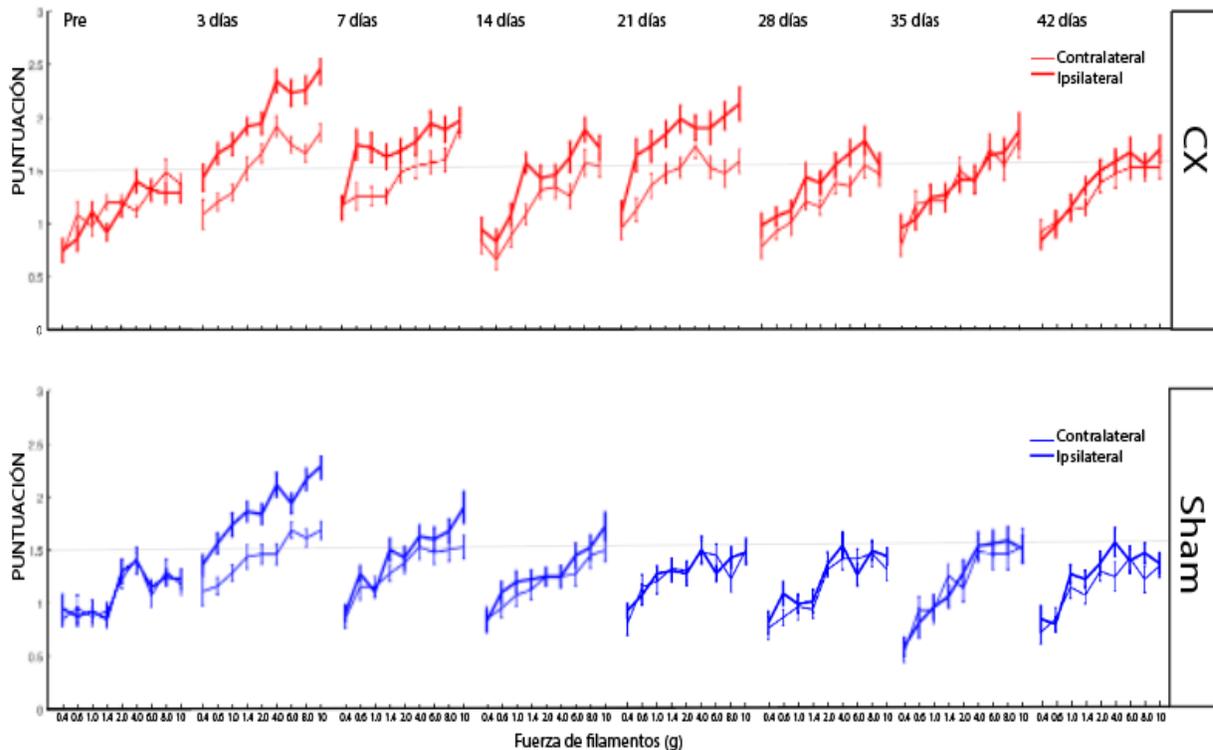


Fig. 1) Evaluación de hiperalgesia mediante la aplicación de un estímulo mecánico. En la gráfica se muestra la puntuación obtenida por las respuestas de ambos grupos de ratones ante la estimulación con filamentos de Von Frey, un día antes de la cirugía, y los días 3, 7, 14, 21, 28, 35 y 42 posteriores a la cirugía. En el eje de las abscisas se muestran la fuerza (g) de cada uno de los filamentos. Se observa que el grupo con cirugía muestra un aumento en la puntuación ipsilateral, en comparación con la contralateral.

- **El grupo con lesión trigeminal disminuye su sensibilidad inicial a la concentración de etanol más alta (40%)**

Después de confirmar la presencia de hiperalgesia en la región facial mediante estimulación mecánica con los filamentos de vonFrey y después de asegurar la desaparición de esto se realizaron las pruebas para evaluar la sensibilidad inicial hacia las diferentes concentraciones al etanol (1.25%, 2.5%, 5%, 10%, 20% y 40%). En esta prueba no se aplicó ningún estímulo térmico aversivo y la liberación de etanol a cada una de las concentraciones se realizaba por gotas de 3 microlitros cada que se registraba un lengüeteo. La razón de lengüeteos del grupo de ratones con lesión trigeminal es similar al grupo sham, en las concentraciones de etanol al 5%, 10% y 20%, como se muestra en la *fig.2*. Mientras que en las pruebas con etanol al

40% muestran una diferencia significativa en comparación con el grupo sham, por lo que se puede concluir que el grupo con lesión trigeminal muestra una disminución en su sensibilidad inicial a la concentración de etanol más alta. Por lo que se puede hipotetizar que también exista un aumento en el consumo de esta concentración en el grupo con lesión trigeminal si se realizan pruebas de comportamiento de ingesta de etanol de acceso prolongado.

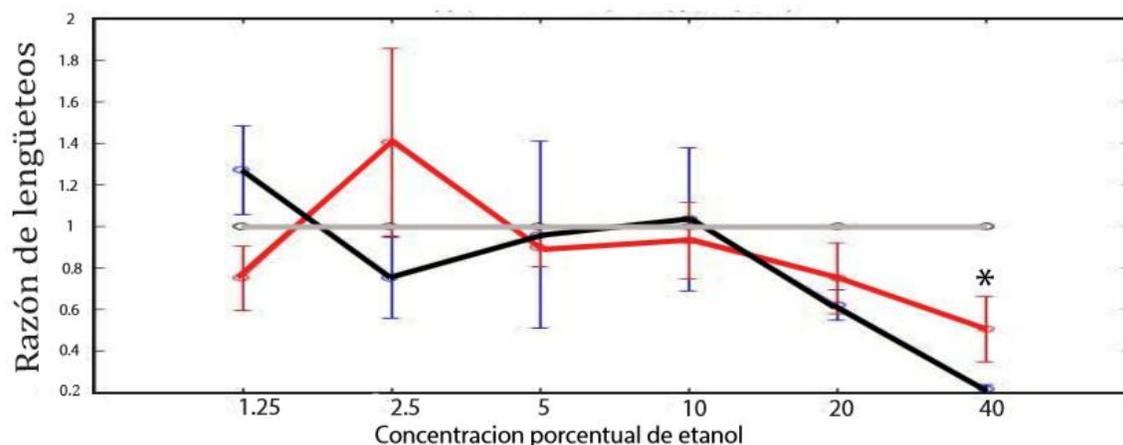


Fig. 2) Evaluación de sensibilidad inicial al consumo de etanol. En la gráfica se muestra la razón de lengüeteos al consumo de agua y al consumo de etanol a diferentes concentraciones (1.25%, 2.5%, 5%, 10%, 20%, 40%), en ambos grupos (cirugía y control). Se observa que el grupo con cirugía muestra un aumento significativo en la razón de lengüeteos a la concentración de etanol al 40%.

- **El grupo con cirugía y el grupo sham muestran una mayor preferencia por la concentración de etanol al 20%**

Después de encontrar que la sensibilidad inicial hacia la concentración más alta de etanol disminuye en el grupo de ratones con lesión trigeminal, se realizaron pruebas de breve acceso (5 minutos) de consumo de etanol a diferentes concentraciones (10%, 20% y 40%), sin la aplicación de un estímulo térmico aversivo. Las diferencias en el índice de preferencia a las diferentes concentraciones, entre ambos grupos es mínima, pero ambos muestran una mayor preferencia por la concentración al 20% comparada con las otras dos concentraciones (10% y 40%) lo que posiblemente refleja la asignación de un valor hedónico positivo a esta concentración por ambos grupos. La preferencia por la concentración de etanol al

40% es menor, probablemente porque la perciben como una sustancia aversiva y le asignen un valor hedónico negativo a esta concentración, como se muestra en la *fig.3*. Sin embargo, al realizar las pruebas sin estímulo térmico aversivo y con la aplicación de un estímulo térmico aversivo de acceso prolongado, se observa que el grupo de ratones con lesión trigeminal no muestra diferencias en el consumo de etanol a la más alta concentración en la prueba sin estímulo térmico en comparación con la prueba con estímulo térmico, como se muestra en la *fig.4*. Lo que sugiere que este grupo asigna un valor recompensante positivo a la concentración de etanol al 40%, a pesar de haber demostrado en las pruebas anteriores que es percibida como una sustancia aversiva.

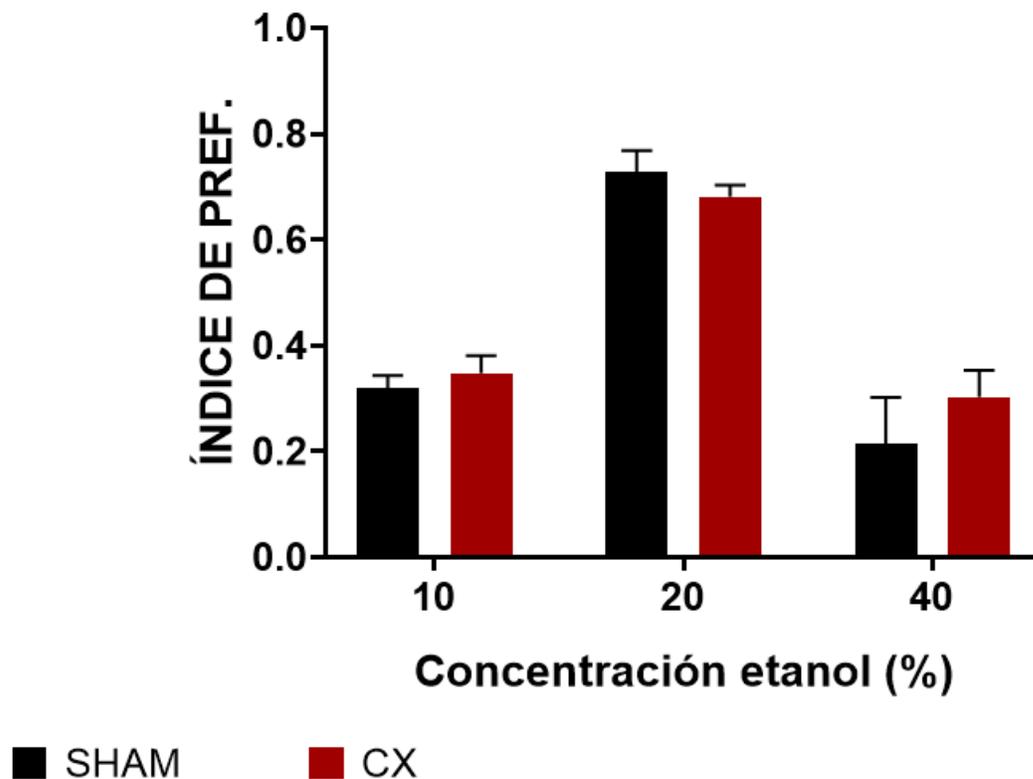


Fig. 3) Índice de preferencia. En la gráfica se muestra el índice de preferencia hacia las diferentes concentraciones de etanol (10%, 20% Y 40%) obtenido por ambos grupos (cirugía y sham) en las pruebas sin temperatura. Con una  $p > .5$ , no se observan diferencias significativas en el índice de preferencia en el consumo de las diferentes concentraciones de etanol.

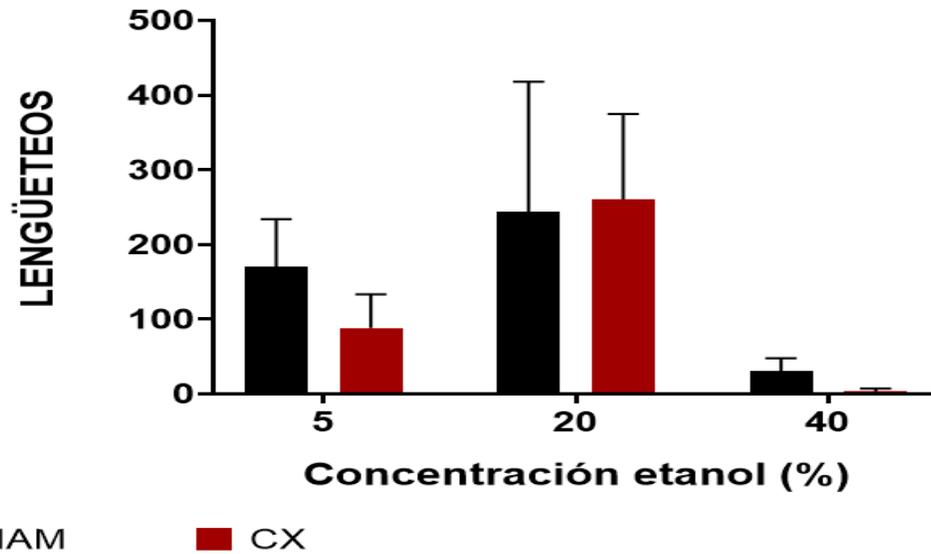


Fig. 4) DELTA. En la gráfica se muestra la diferencia en el consumo (delta) de las diferentes concentraciones de etanol (10%, 20% Y 40%), entre las pruebas sin estímulo térmico y las pruebas con estímulo térmico aversivo, en ambos grupos (sham y cirugía). Con una  $p > .05$ , no se observan diferencias significativas en la delta del consumo de las diferentes concentraciones de etanol entre ambas pruebas.

- **El cambio en el consumo no se debe a cambios en el componente motor del lengüeteo**

Al observar una disminución en el número de lengüeteos obtenidos a la más alta concentración, se puede pensar que esto es debido a una alteración en la motricidad de los ciclos de lengüeteos, debido a la lesión del nervio. Para descartar esta posibilidad, se realizó un análisis del componente motor del patrón de lengüeteos, en el que se compara a los grupos (sham y cx) durante su consumo de agua, en donde se observa que el patrón es similar, después se analizaron y compararon ambos grupos en las pruebas con la más alta concentración (40%) *fig.5*. El análisis completo muestra que la frecuencia, la dispersión de los lengüeteos a través del tiempo (seg) y la media de los pares de los intervalos entre lengüeteos (ILI) es similar para ambos grupos (sham y cx) tanto en el consumo de agua como en el consumo de etanol a la concentración más alta (40%). Por lo tanto, se puede concluir que la lesión del nervio mentoniano no provoca una alteración en el componente

motor del ciclo del lengüeteo y que la disminución del consumo se atribuye al efecto sensorial (percepción) del etanol a la más alta concentración (40%).

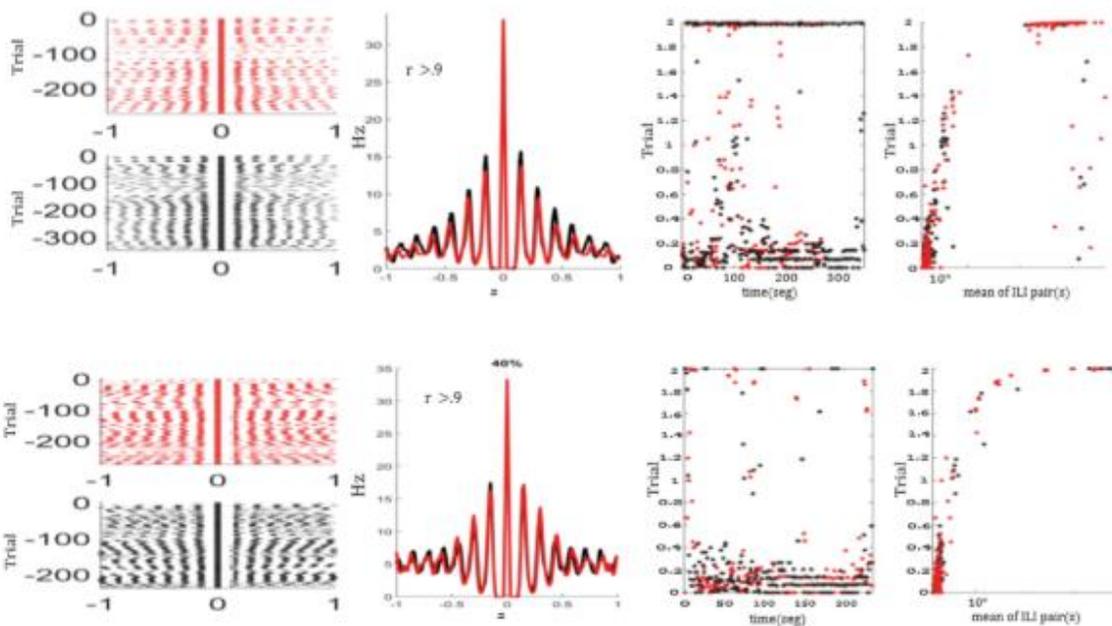


Fig. 5) Componente motor del lengüeteo. En la figura se muestra la comparación de la frecuencia (Hz), en la cual no se observan diferencias entre ambos grupos (sham y cx) en ambas pruebas, agua (fila superior) y etanol 40% fila inferior). El promedio de los ensayos a través del tiempo (seg) y de los pares de intervalos entre lengüeteos (ILI) tampoco muestran diferencias entre ambos grupos en ambas pruebas.

- **El grupo de ratones con lesión trigeminal, muestra una tendencia compulsiva en el consumo de etanol a la concentración más alta.**

Después de observar el comportamiento general del consumo de etanol a diferentes concentraciones, se continuó con el análisis más detallado, por lo que se decidió estudiar la microestructura del lengüeteo durante las pruebas de consumo de etanol a diferentes concentraciones (5%, 20% y 40%) en las pruebas sin estímulo térmico y en las pruebas con estímulo térmico aversivo (55°C) para poder así describir de una manera más específica el comportamiento de ambos grupos. En la microestructura del lengüeteo, primero se analizaron los intervalos entre lengüeteos (ILI), como se muestra en la *fig.6*, en los cuales no se muestra una diferencia significativa en las concentraciones de etanol al 5% y 20%. El grupo de ratones con lesión trigeminal

muestra una disminución en los intervalos entre lengüeteos en las pruebas con la aplicación del estímulo térmico aversivo lo que refleja que los lengüeteos fueron realizados de una forma más rápida a comparación del grupo sham. Este tipo de conducta es característica de un comportamiento de tipo compulsivo.

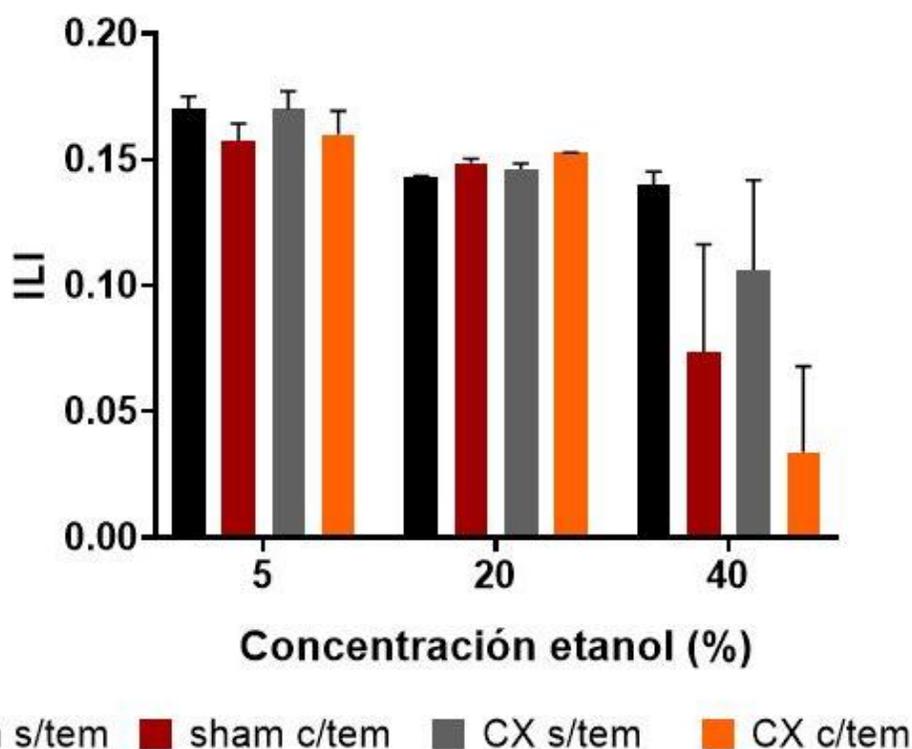


Fig. 6) Intervalo entre lengüeteos. En la gráfica se muestra la razón de los intervalos entre lengüeteos en las pruebas de consumo de etanol a diferentes concentraciones (5%, 20% Y 40%), con temperatura y sin temperatura para ambos grupos (cirugía y sham). Con una  $p > .5$ , no se observan diferencias significativas en la razón de los intervalos entre lengüeteos.

Después, al analizar el número de clusters realizados por cada grupo en ambas pruebas, se observó que hay una disminución de clusters en el consumo de etanol a la más alta concentración (40%), como se observa en la *fig.7*, lo que ayuda a confirmar la asignación de un valor hedónico negativo, al ser percibida como una sustancia aversiva. El grupo de ratones sham no realizó ningún cluster en las pruebas con aplicación del estímulo térmico aversivo, lo que refleja que los lengüeteos que

realizaron fueron totalmente dispersos y que prefirieron no consumir etanol por la presencia del estímulo. Mientras tanto, el grupo con lesión trigeminal realiza una pequeña cantidad de clusters, lo que muestra que, a pesar de la aplicación del estímulo térmico aversivo, preferían consumir etanol. La concentración de etanol al 20%, que en el análisis anterior había sido la concentración de mayor preferencia por ambos grupos, es la concentración que obtuvo una mayor cantidad de clusters, por lo que se puede afirmar la asignación de un valor hedónico positiva a esta concentración, ya que no es percibida como aversiva, si no lo contrario.

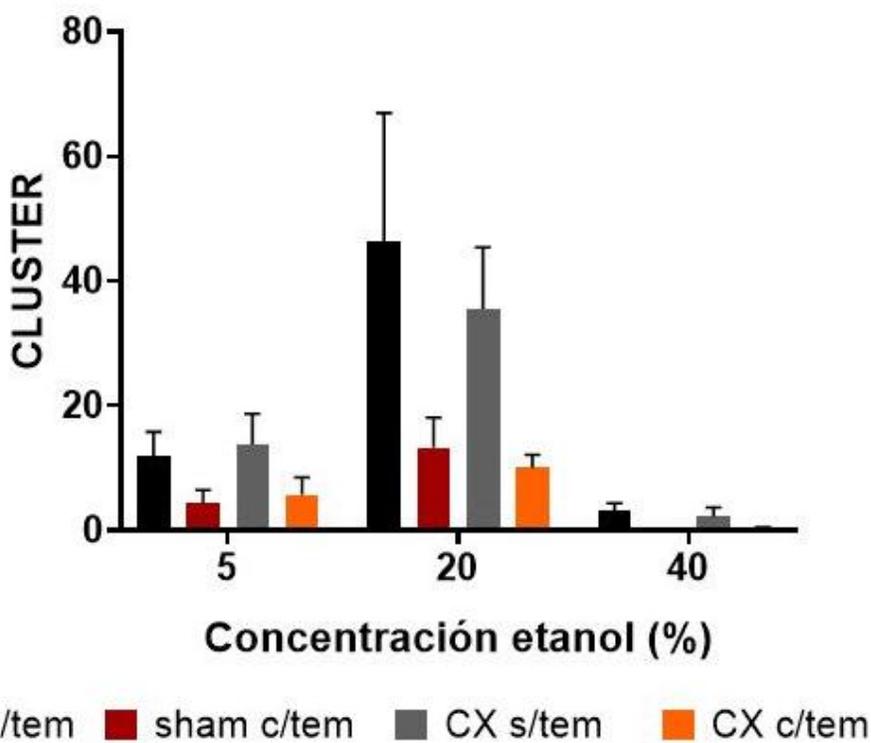


Fig. 7) Clusters. En la gráfica se muestra el número de clusters obtenidos por ambos grupos (cirugía y sham) en las pruebas de consumo de etanol a diferentes concentraciones (5%, 20% y 40%), con temperatura y sin temperatura. Con una  $p > .5$ , no se observan diferencias significativas en el número de clusters obtenidos en cada una de las pruebas.

Al analizar la duración de los clusters, como se muestra en la *fig. 8*, se observa que los clusters realizados por el grupo de ratones con lesión trigeminal disminuyen la longitud de los clusters lo que indica que los clusters se realizan por periodos cortos de tiempo, debido a que la asignación del valor hedónico que se le asigna a la

concentración más alta (40%) sigue siendo negativa. En la prueba sin aplicación de un estímulo térmico aversivo al grupo con lesión trigeminal, la longitud de los clusters es mayor en comparación con la prueba del estímulo aversivo. Sin embargo, al observar que aún se mantiene una cierta longitud de los clusters nos afirma que el grupo con lesión trigeminal, prefiere el consumo de etanol a la más alta concentración aun con la presencia del estímulo, mientras que el grupo sham realiza los lengüeteos de forma intercalada.

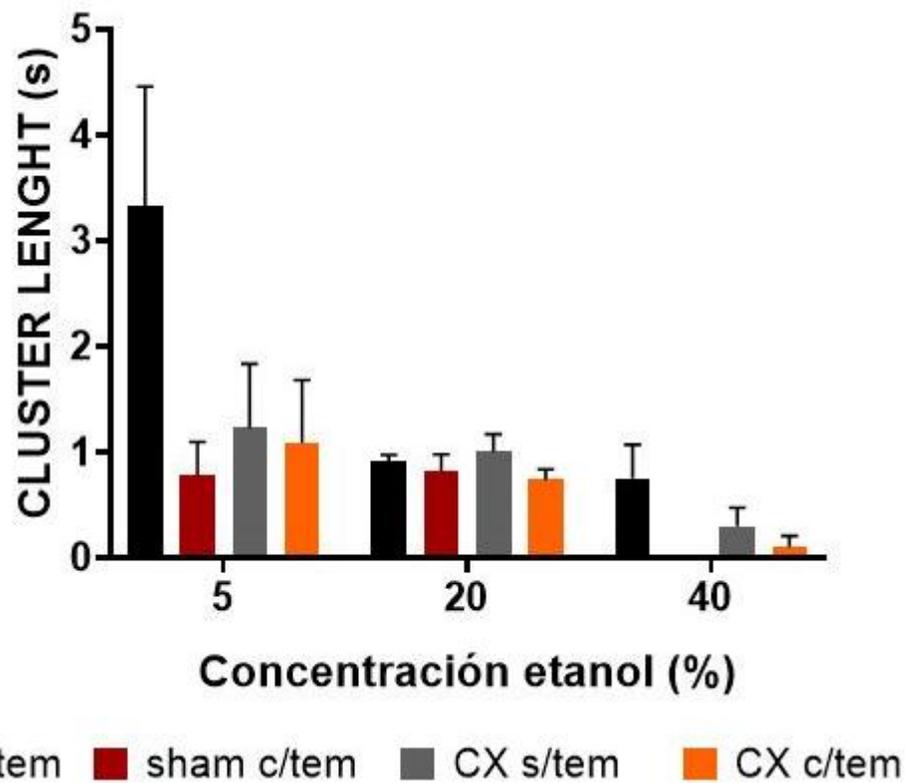


Fig. 8) Longitud de clusters en segundos (s). En la gráfica se muestra la media de las longitudes (s) de los clusters obtenidos por ambos grupos (cirugía y sham) en las pruebas de consumo de etanol a diferentes concentraciones (5%, 20% Y 40%), con temperatura y sin temperatura. Con una  $p > .5$ , no se observan diferencias significativas en las longitudes de los clusters obtenidos en cada una de las pruebas.

También se analizó la cantidad de lengüeteos por cluster, para saber si la longitud de los, interesantemente, la cantidad de lengüeteos por cluster del grupo de ratones con lesión trigeminal es ligeramente mayor en la prueba con aplicación de un estímulo

térmico aversivo que en la prueba sin estímulo aversivo en el mismo grupo, como se muestra en la *fig. 9*. Lo que refleja que a pesar de que los clusters tienen una longitud menor el número de lengüeteo por cada cluster es mayor, por lo tanto esto también confirma la idea de que el tipo de comportamiento que muestra este grupo de ratones con lesión trigeminal, es una conducta compulsiva ya que, si bien el valor hedónico negativo y la percepción como una sustancia aversiva de la concentración más alta de etanol (40%), el valor recompensante, a pesar de la aplicación del estímulo térmico aversivo se vuelve positivo. El patrón de consumo del grupo de ratones con lesión se muestra por periodos relativamente cortos de tiempo, pero la rapidez y la cantidad de lengüeteos con la que se llevan a cabo por cada uno de los periodos es mayor en comparación con las otras concentraciones y con el grupo sham.

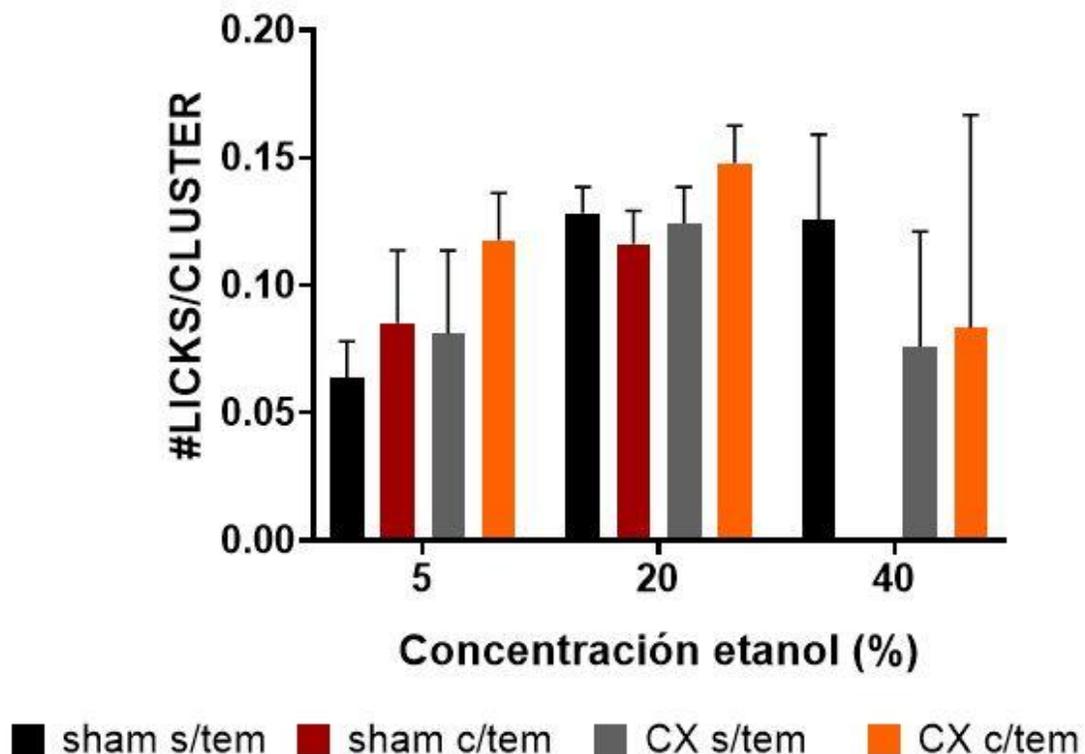


Fig. 9) Índice de número de lengüeteos por cluster. En la gráfica se muestra el índice de número de lengüeteos por cada cluster obtenido por cada grupo (cirugía y sham) en las pruebas de consumo de etanol a diferentes concentraciones (5%, 20% Y 40%), con temperatura y sin temperatura. Con

una  $p > .5$ , no se observan diferencias significativas en el índice de lengüeteos por cluster obtenido en cada una de las pruebas.

Por último, se analizó la irregularidad (CV2) de los lengüeteos, se observó que el grupo de ratones con lesión trigeminal muestra una disminución en la irregularidad de los lengüeteos en la prueba con aplicación del estímulo térmico en comparación con el grupo sham, como se muestra en la *fig. 10*. Al ser más regulares los lengüeteos de este grupo, indica que este patrón mantiene una forma más estereotipada, que a pesar de la poca cantidad de clusters realizados, la rapidez de los lengüeteos, el número de lengüeteos por cluster es mayor y que mantienen la frecuencia de una forma más regular. Al ser la compulsión, una conducta repetitiva, intencionada y estereotipada, se puede afirmar que el grupo de ratones muestran una conducta de tipo compulsiva de etanol a la más alta concentración en las pruebas con temperatura.

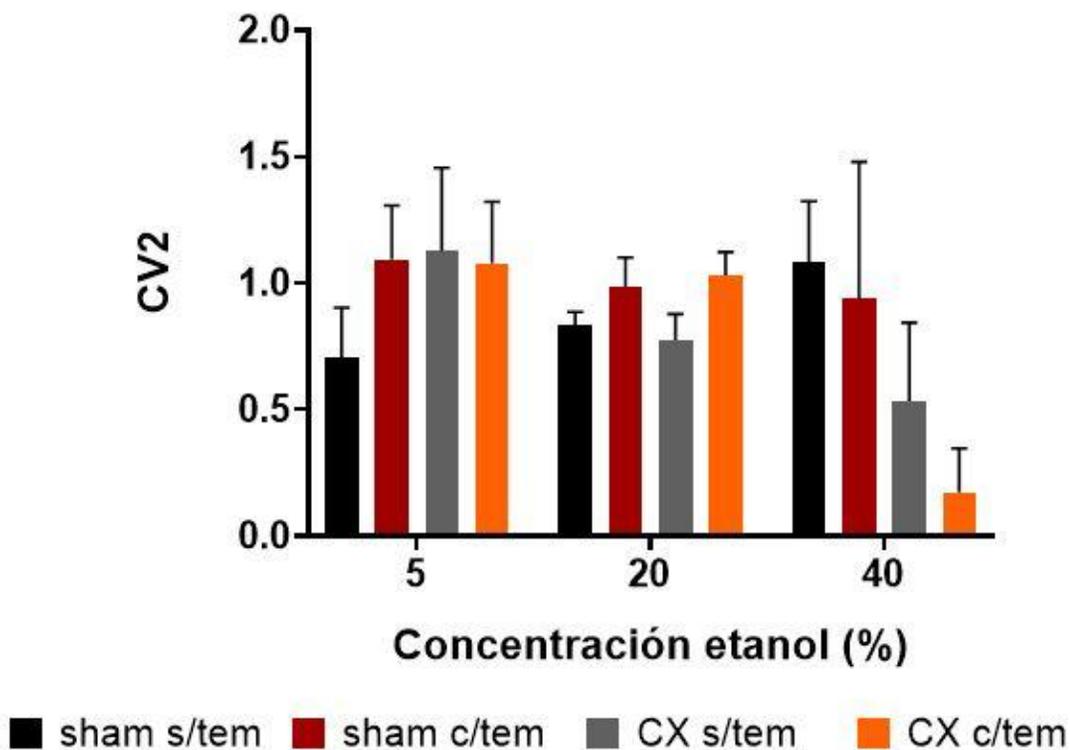


Fig. 7) . En la gráfica se muestra el coeficiente de variación<sup>2</sup> (CV2) del ILI, obtenido en cada una de las pruebas, por ambos grupos (cirugía y sham) en las pruebas de consumo de etanol a diferentes concentraciones (5%, 20% Y 40%), con temperatura y sin temperatura. Con una  $p > .5$ , no se observan diferencias significativas en el CV2 de cada una de las pruebas.

## DISCUSIÓN

La adicción a una sustancia es caracterizada como la manifestación de un desbalance entre el sistema de recompensa y el sistema de aprendizaje de hábitos (Koob & Le Moal, 2008). Una de sus características principales es que este desbalance desencadena un comportamiento compulsivo en el consumo de cierta sustancia. Como lo mencionan Berlin y cols. en 2014, conductualmente, un comportamiento compulsivo es caracterizado por actos repetitivos y perseverativos los cuales se consideran, hasta cierto punto, inapropiados para una situación y tiende a ser rígido y estereotipado. Mandt BH y cols. (2017) sugieren que los individuos que muestran una sensibilidad inicial al etanol tienen un mayor riesgo de desarrollar dependencia y/o abuso en el consumo de etanol posteriormente. El grupo de ratones con lesión trigeminal muestra una disminución en la sensibilidad al consumo de etanol a la concentración más alta (40%). En este caso no se puede establecer una relación entre la disminución de la sensibilidad inicial y el desarrollo de dependencia o abuso de etanol, ya que no se observa este desarrollo como tal, solamente se observa la conducta de tipo compulsiva, pero se puede hipotetizar que si se realizan pruebas de acceso crónico después de estas pruebas de acceso prolongado, los ratones podrían desarrollar abuso o dependencia al etanol debido a la disminución en la sensibilidad inicial que presentaron en éste experimento. Al haber realizado el análisis completo de la conducta de ambos grupos de ratones (sham y cx), se puede concluir que el grupo con lesión trigeminal presenta una conducta compulsiva hacia el consumo de la concentración más alta de etanol (40%).

Hoi-Ki Ding y cols. en el 2005. desarrollaron un sistema para la realización de pruebas de “hot plate” (aplicación de un estímulo térmico aversivo), que a diferencia

de los sistemas anteriores, permitía tener al ratón en libre movimiento y tener la libertad de elegir su preferencia, permanecer en el lado caliente o en el lado sin temperatura; con el propósito de que fuera útil para poder realizar tareas para el estudio de aspectos relacionados con la memoria, el aprendizaje, evaluación de terapias con medicamentos y evaluación de comportamiento. Ellos observaron que después de realizar repetidamente las pruebas, los ratones aprendían y disminuían su periodo de latencia de escape del estímulo térmico aversivo. El sistema utilizado en este proyecto se basó en el desarrollado por Hoi-Ki Ding y cols. con la finalidad de evaluar el comportamiento de ambos grupos de ratones en libre movimiento y así poder observar cambios en su preferencia, agregando la opción de consumir etanol. Los datos obtenidos, nos muestran cambios en la preferencia, una disminución en el consumo de etanol en las pruebas con la aplicación de un estímulo térmico aversivo. Interesantemente, el grupo de ratones con lesión trigeminal fue el grupo que menos mostró diferencias en la preferencia. Este resultado ayuda a confirmar la propuesta de que el dolor crónico facilita el desarrollo de estrés, depresión y otros cambios emocionales, por lo tanto, esta condición puede asociarse al desarrollo de abuso y/o dependencia al etanol.

Un estudio con un modelo murino de dolor neuropático realizado por González-Sepúlveda y cols. propuso que la ligación del nervio ciático resultaba en un aumento en el consumo de etanol y en el desarrollo de comportamientos de ansiedad y depresión, el análisis que realizaron se limitó a medir la cantidad de etanol que consumieron los ratones. En este proyecto, se presentó un modelo murino con constricción del nervio mentoniano sometido a pruebas de comportamiento con consumo de etanol, la aplicación de un estímulo térmico aversivo y un análisis más específico, utilizando cada una de las variables que caracterizan el consumo de una sustancia. Con el análisis general del consumo se puede obtener información de la cantidad de sustancia que fue ingerida, sin embargo, en este proyecto el objetivo fue

estudiar la conducta o el patrón de consumo, por lo que fue necesario el análisis de la microestructura del lengüeteo.

Merchán A. Y COLS. (2018) proponen que un aumento en la frecuencia del lengüeteo refleja un déficit en el control inhibitorio y cuando esta frecuencia se ve acompañada de un aumento en la intensidad, refleja un comportamiento compulsivo. En este proyecto, al observar el aumento en el intervalo entre lengüeteos (ILI) y su relación con el número, longitud y número de lengüeteos por cluster, por el grupo de ratones con lesión trigeminal en la prueba con aplicación de un estímulo térmico aversivo y la concentración más alta de etanol, se pudo sospechar que la conducta que había desarrollado este grupo era una conducta de tipo compulsiva, esto debido a las características del patrón del lengüeteo. Para poder confirmar esto, se realizó el análisis de la irregularidad de los lengüeteos, en donde se observó una menor irregularidad en los lengüeteos evocados por este grupo; este dato nos ayuda a confirmar la presencia de otra característica particular del comportamiento compulsivo que se lleva a cabo de forma estereotipada. Los resultados obtenidos sustentan conductualmente, las teorías propuestas acerca de las alteraciones causadas por el desarrollo de dolor crónico. Uno de los principales sistemas que desarrollan alteraciones es el sistema de recompensa, cuya alteración puede desencadenar comportamientos de tipo adictivo, como lo es la adicción al etanol, el abuso y la dependencia a su consumo. En el caso de este proyecto es precipitado confirmar la presencia de alcoholismo, abuso o dependencia a esta sustancia., pero se puede afirmar que existe una conducta compulsiva, característica particular de la adicción.

## **CONCLUSIONES**

En el área odontológica, se sabe que la cavidad oral es una región altamente inervada y que, a nivel clínico, al momento de realizar tratamientos odontológicos, existe un alto riesgo de provocar una lesión a algún nervio. En muchas ocasiones no

se tiene el conocimiento de la magnitud de los problemas que se pueden presentar con el hecho de provocar una lesión a este nivel. La investigación científica odontológica, tiene como propósito profundizar y generar nuevos conocimientos para poder mejorar la atención a nivel clínico y por consecuencia, la calidad de vida de los pacientes. El desarrollo y el uso de modelos animales de dolor crónico neuropático orofacial, es importante para poder dilucidar sobre los mecanismos neurofisiológicos implicados en el desarrollo y establecimiento de dolor crónico y las alteraciones conductuales que esta enfermedad puede evocar. Uno de estas alteraciones es el abuso en el consumo de alcohol; en este proyecto se realizó una evaluación en la conducta de tipo adictiva al etanol, en ratones con dolor crónico neuropático orofacial y por los resultados obtenidos, es precipitado confirmar el desarrollo de alcoholismo, abuso o dependencia, pero se puede concluir que los ratones presentaron una conducta compulsiva, la cuál es característica de la adicción.

## **PERSPECTIVAS**

Después de haber obtenido estos resultados, sería interesante, como perspectivas de este proyecto, continuar con la identificación de circuitos neuronales involucrados en el desarrollo de estas alteraciones, a través de registros electrofisiológicos y proponer el desarrollo de tratamientos específicos que permitan reducir los efectos adversos que presentan los tratamientos que actualmente se aplican a cada una de estas condiciones, que, si bien se ha mencionado, tienen un impacto negativo en la salud pública.

## GLOSARIO

- **Dolor:** Es una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular, real o potencial, o descrita en términos de dicho daño
- **Dolor crónico:** Persistencia de la memoria del dolor y/o la inhabilidad de extinguir esa memoria del dolor provocado por una lesión inicial y que no cumple con ningún rol biológico aparente.
- **Dolor neuropático:** Es una afección neurológica que aparece como consecuencia de alteración en el sistema nervioso, tanto central, como periférico y se debe a una lesión o a un mal funcionamiento de éste, y no a una activación anormal de las vías nociceptoras.
- **Dolor espontáneo:** Dolor que aparece sin algún factor desencadenante aparente.
- **Nocicepción:** Mecanismo de transducción (activación del receptor) y la generación de un estímulo en un impulso nervioso.
- **Alodinia:** Es una percepción anormal del dolor, proveniente de un estímulo que no es nocivo.
- **Hiperalgesia:** Es una percepción anormal del dolor, en la que existe una respuesta exacerbada, ante un estímulo nocivo.
- **Adicción:** Desorden crónico, recidivante, caracterizado por comportamientos compulsivos sobre la búsqueda e ingesta de drogas, una pérdida de control en la limitación de la ingesta y la presencia de estados negativos emocionales cuando se impide el consumo de éstas.
- **Impulsividad:** Es un desorden caracterizado por la incapacidad de resistir una acción o un impulso.
- **Compulsividad:** Es un desorden caracterizado por actos repetitivos y perseverativos que se consideran excesivos o inapropiados para una situación.
- **Droga:** Sustancia natural, de origen vegetal o animal, o sintética que se utiliza con la intención de generar un efecto sobre el organismo.
- **BLA:** Amígdala Basolateral

- **PFC:** Corteza Prefrontal
- **LA:** Amígdala Lateral
- **ITC:** Masa de Células Intercaladas
- **ACC:** Corteza Anterior Cingulada
- **IC:** Corteza Insular
- **PAG:** Sustancia Gris Periacueductal
- **CeA:** Amígdala central
- **mPFC:** Corteza Prefrontal Media
- **CeLC:** División Capsular y Lateral del núcleo central
- **NAc:** Núcleo Accumbens
- **CA1-3:** Cornu Ammonis
- **DG:** Giro Dentado
- **VP:** Núcleo Posterior Ventral del tálamo
- **PO:** Núcleo Posterior del tálamo
- **ILN:** Núcleo Intralaminar del tálamo
- **MD:** Núcleo Dorsal Medial del tálamo
- **RVM:** Médula Rostro Ventral
- **LC:** Locus Coeruleus
- **AUD:** Desorden en el Uso de Alcohol
- **ILI:** Intervalo entre lengüeteos
- **CV2:** Coeficiente de variación 2 (irregularidad)

## BIBLIOGRAFÍA

- Apkarian, A. V., Baliki, M. N., & Geha, P. Y. (2009). Towards a theory of chronic pain. *Prog Neurobiol*, 87(2), 81-97. doi:10.1016/j.pneurobio.2008.09.018
- Apkarian, A. V., Neugebauer, V., Koob, G., Edwards, S., Levine, J. D., Ferrari, L., . . . Regunathan, S. (2013). Neural mechanisms of pain and alcohol dependence. *Pharmacol Biochem Behav*, 112, 34-41. doi:10.1016/j.pbb.2013.09.008
- Apkarian, A. V., Neugebauer, V., Koob, G., Edwards, S., Levine, J. D., Ferrari, L., . . . Regunathan, S. (2013). Neural mechanisms of pain and alcohol dependence. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 112, 34-41. doi:10.1016/j.pbb.2013.09.008
- Bagot, R. C., Parise, E. M., Pena, C. J., Zhang, H. X., Maze, I., Chaudhury, D., . . . Nestler, E. J. (2015). Ventral hippocampal afferents to the nucleus accumbens regulate susceptibility to depression. *Nat Commun*, 6, 7062. doi:10.1038/ncomms8062
- Baliki, M. N., Mansour, A., Baria, A. T., Huang, L., Berger, S. E., Fields, H. L., & Apkarian, A. V. (2013). Parceling human accumbens into putative core and shell dissociates encoding of values for reward and pain. *J Neurosci*, 33(41), 16383-16393. doi:10.1523/JNEUROSCI.1731-13.2013
- Barkus, C., McHugh, S. B., Sprengel, R., Seeburg, P. H., Rawlins, J. N., & Bannerman, D. M. (2010). Hippocampal NMDA receptors and anxiety: at the interface between cognition and emotion. *Eur J Pharmacol*, 626(1), 49-56. doi:10.1016/j.ejphar.2009.10.014
- Berlin, G. S., & Hollander, E. (2014). Compulsivity, impulsivity, and the DSM-5 process. *CNS Spectr*, 19(1), 62-68. doi:10.1017/S1092852913000722
- Blegen, M. B., da Silva, E. S. D., Bock, R., Morisot, N., Ron, D., & Alvarez, V. A. (2018). Alcohol operant self-administration: Investigating how alcohol-seeking behaviors predict drinking in mice using two operant approaches. *Alcohol*, 67, 23-36. doi:10.1016/j.alcohol.2017.08.008
- Bushnell, M. C., Ceko, M., & Low, L. A. (2013). Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain. *Nat Rev Neurosci*, 14(7), 502-511. doi:10.1038/nrn3516
- Cacciaglia, R., Pohlack, S. T., Flor, H., & Nees, F. (2015). Dissociable roles for hippocampal and amygdalar volume in human fear conditioning. *Brain Struct Funct*, 220(5), 2575-2586. doi:10.1007/s00429-014-0807-8
- Chen, T., Taniguchi, W., Chen, Q. Y., Tozaki-Saitoh, H., Song, Q., Liu, R. H., . . . Zhuo, M. (2018). Top-down descending facilitation of spinal sensory excitatory transmission from the anterior cingulate cortex. *Nat Commun*, 9(1), 1886. doi:10.1038/s41467-018-04309-2
- Crofford, L. J. (2015). Chronic Pain: Where the Body Meets the Brain. (0065-7778 (Print)).
- Dalley, J. W., Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2011). Impulsivity, compulsivity, and top-down cognitive control. *Neuron*, 69(4), 680-694. doi:10.1016/j.neuron.2011.01.020
- de Paiva Lima, C., da Silva, E. S. D. A., Damasceno, S., Ribeiro, A. F., Rocha, C. S., Berenguer de Matos, A. H., . . . Brunialti Godard, A. L. (2017). Loss of control over the ethanol consumption: differential transcriptional regulation in prefrontal cortex. *J Neurogenet*, 31(3), 170-177. doi:10.1080/01677063.2017.1349121
- de Sousa, M. V. P., Ferraresi, C., de Magalhães, A. C., Yoshimura, E. M., & Hamblin, M. R. (2014). Building, testing and validating a set of home-made von Frey filaments: a precise, accurate and cost effective alternative for nociception assessment. *Journal of neuroscience methods*, 232, 1-5. doi:10.1016/j.jneumeth.2014.04.017
- DING, H., SHUM, F., KO, S., & ZHUO, M. (2005). A New Assay of Thermal-based Avoidance Test in Freely Moving Mice. *The Journal of Pain*, 6(7), 411-416. doi:10.1016/j.jpain.2005.01.361

- Duvarci, S., & Pare, D. (2014). Amygdala microcircuits controlling learned fear. *Neuron*, 82(5), 966-980. doi:10.1016/j.neuron.2014.04.042
- Egli, M., Koob, G. F., & Edwards, S. (2012). Alcohol dependence as a chronic pain disorder. *Neurosci Biobehav Rev*, 36(10), 2179-2192. doi:10.1016/j.neubiorev.2012.07.010
- Eichenbaum, H. (2017). Memory: Organization and Control. *Annu Rev Psychol*, 68, 19-45. doi:10.1146/annurev-psych-010416-044131
- el-Guebaly, N., Mudry, T., Zohar, J., Tavares, H., & Potenza, M. N. (2012). Compulsive features in behavioural addictions: the case of pathological gambling. *Addiction*, 107(10), 1726-1734. doi:10.1111/j.1360-0443.2011.03546.x
- Esel, E., & Dinc, K. (2016). Neurobiology of Alcohol Dependence and Implications on Treatment. *Turkish Journal of Psychiatry*. doi:10.5080/u14894
- Fenton, B. W., Shih, E., & Zolton, J. (2015). The neurobiology of pain perception in normal and persistent pain. *Pain Management*, 5(4), 297-317. doi:10.2217/pmt.15.27
- Gately, I. (2008). *Drink: A Cultural History of Alcohol*: Gotham Books.
- Gauriau, C., & Bernard, J. F. (2002). Pain pathways and parabrachial circuits in the rat. (0958-0670 (Print)).
- Giustino, T. F., & Maren, S. (2015). The Role of the Medial Prefrontal Cortex in the Conditioning and Extinction of Fear. *Front Behav Neurosci*, 9, 298. doi:10.3389/fnbeh.2015.00298
- Goltseker, K., Hopf, F. W., & Barak, S. (2019). Advances in behavioral animal models of alcohol use disorder. *Alcohol*, 74, 73-82. doi:10.1016/j.alcohol.2018.05.014
- Gonzalez-Sepulveda, M., Pozo, O. J., Marcos, J., & Valverde, O. (2016). Chronic pain causes a persistent anxiety state leading to increased ethanol intake in CD1 mice. *Journal of Psychopharmacology*, 2(1461-7285 (Electronic)), 188-203.
- Hashmi, J. A., Baliki, M. N., Huang, L., Baria, A. T., Torbey, S., Hermann, K. M., . . . Apkarian, A. V. (2013). Shape shifting pain: chronification of back pain shifts brain representation from nociceptive to emotional circuits. *Brain*, 136(Pt 9), 2751-2768. doi:10.1093/brain/awt211
- Hemington, K. S., & Coulombe, M.-A. (2015). The periaqueductal gray and descending pain modulation: why should we study them and what role do they play in chronic pain? *Journal of Neurophysiology*, 114(4), 2080-2083. doi:10.1152/jn.00998.2014
- Hoover, W. B., & Vertes, R. P. (2007). Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Struct Funct*, 212(2), 149-179. doi:10.1007/s00429-007-0150-4
- Kenshalo Dr Jr Fau - Isensee, O., & Isensee, O. (1983). Responses of primate SI cortical neurons to noxious stimuli. *Journal of Neurophysiology*, 6(0022-3077 (Print)).
- Koob, G. F., Buck, C. L., Cohen, A., Edwards, S., Park, P. E., Schlosburg, J. E., . . . George, O. (2014). Addiction as a stress surfeit disorder. *Neuropharmacology*, 76 Pt B, 370-382. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.05.024
- Koob, G. F., & Le Moal, M. (2005). Plasticity of reward neurocircuitry and the 'dark side' of drug addiction. *Nature Neuroscience*, 8(11), 1442-1444. doi:10.1038/nn1105-1442
- Koob, G. F., & Le Moal, M. (2008). Addiction and the brain antireward system. *Annu Rev Psychol*, 59, 29-53. doi:10.1146/annurev.psych.59.103006.093548
- Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2016). Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *The Lancet Psychiatry*, 3(8), 760-773. doi:10.1016/s2215-0366(16)00104-8
- Lei, K., Wegner, S. A., Yu, J. H., Simms, J. A., & Hopf, F. W. (2016). A single alcohol drinking session is sufficient to enable subsequent aversion-resistant consumption in mice. *Alcohol*, 55, 9-16. doi:10.1016/j.alcohol.2016.07.008

- Marek, R., Strobel, C., Bredy, T. W., & Sah, P. (2013). The amygdala and medial prefrontal cortex: partners in the fear circuit. *J Physiol*, 591(10), 2381-2391. doi:10.1113/jphysiol.2012.248575
- Mason, B. J. (2017). Emerging pharmacotherapies for alcohol use disorder. *Neuropharmacology*, 122, 244-253. doi:10.1016/j.neuropharm.2017.04.032
- McGaugh, J. L. (2004). The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu Rev Neurosci*, 27, 1-28. doi:10.1146/annurev.neuro.27.070203.144157
- Merchán, A., Mora, S., Gago, B., Rodríguez-Ortega, E., Fernández-Teruel, A., Puga, J. L., ... Flores, P. (2018). Excessive habit formation in schedule-induced polydipsia: Microstructural analysis of licking among rat strains and involvement of the orbitofrontal cortex. *Genes, Brain and Behavior*, e12489. doi:10.1111/gbb.12489
- Mills, E. P., Di Pietro, F., Alshelh, Z., Peck, C. C., Murray, G. M., Vickers, E. R., & Henderson, L. A. (2018). Brainstem Pain-Control Circuitry Connectivity in Chronic Neuropathic Pain. *J Neurosci*, 38(2), 465-473. doi:10.1523/JNEUROSCI.1647-17.2017
- Neugebauer, V. (2015). Amygdala pain mechanisms. *Handb Exp Pharmacol*, 227, 261-284. doi:10.1007/978-3-662-46450-2\_13
- Pape, H. C., & Pare, D. (2010). Plastic synaptic networks of the amygdala for the acquisition, expression, and extinction of conditioned fear. *Physiol Rev*, 90(2), 419-463. doi:10.1152/physrev.00037.2009
- Schwartz, N., Temkin, P., Jurado, S., Lim, B. K., Heifets, B. D., Polepalli, J. S., & Malenka, R. C. (2014). Chronic pain. Decreased motivation during chronic pain requires long-term depression in the nucleus accumbens. *Science (New York, N.Y.)*, 345(6196), 535-542. doi:10.1126/science.1253994
- Thompson, J. M., & Neugebauer, V. (2019). Cortico-limbic pain mechanisms. *Neurosci Lett*, 702, 15-23. doi:10.1016/j.neulet.2018.11.037
- Villemure, C., & Bushnell, M. C. (2009). Mood influences supraspinal pain processing separately from attention. *J Neurosci*, 29(3), 705-715. doi:10.1523/JNEUROSCI.3822-08.2009
- Vogt, B. A., & Paxinos, G. (2014). Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologies. *Brain Struct Funct*, 219(1), 185-192. doi:10.1007/s00429-012-0493-3
- Wise, R. A. (2009). Roles for nigrostriatal--not just mesocorticolimbic--dopamine in reward and addiction. *Trends Neurosci*, 32(10), 517-524. doi:10.1016/j.tins.2009.06.004
- Yalcin, I., Megat, S., Barthas, F., Waltisperger, E., Kremer, M., Salvat, E., & Barrot, M. (2014). The sciatic nerve cuffing model of neuropathic pain in mice. *Journal of visualized experiments : JoVE*(89), 51608. doi:10.3791/51608
- Yen, C. T., Conley, M., Hendry, S. H., & Jones, E. G. (1985). The morphology of physiologically identified GABAergic neurons in the somatic sensory part of the thalamic reticular nucleus in the cat. *The Journal of Neuroscience*, 5(8), 2254. doi:10.1523/JNEUROSCI.05-08-02254.1985
- Yen, C. T., & Lu, P. L. (2013). Thalamus and pain. *Acta Anaesthesiol Taiwan*, 51(2), 73-80. doi:10.1016/j.aat.2013.06.011