



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

CONECTIVIDAD FUNCIONAL DEL CEREBELO EN RATAS SUJETAS A UN
MODELO PRECLÍNICO DE ALCOHOLISMO

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

PRESENTA:

DIEGO EMANUEL ORTUZAR MARTINEZ

TUTOR

DR. EDUARDO ADRIÁN GARZA VILLARREAL

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA (UNAM)

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

DR. GERARDO ROJAS PILONI

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA (UNAM)

DR. ROMÁN VIDAL TAMAYO RAMIREZ

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

JURIQUILLA, QUERÉTARO, OCTUBRE DE 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.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dra. María Isabel Miranda Saucedo

Secretario: Dr. Eduardo Adrián Garza Villarreal

Vocal: Dra. Nayeli Páez Martínez

1er Suplente: José Gerardo Rojas Piloni

2do Suplente: Sarael Alcauter Solórzano

Agradezco las recomendaciones y correcciones que enriquecieron esta tesis y su apoyo a lo largo del desarrollo del proyecto.

Universidad Nacional Autónoma de México

Instituto de Neurobiología

Los miembros del Jurado certificamos que la tesis elaborada por: Diego Emanuel Ortuzar Martinez, cuyo título es: “Conectividad funcional del cerebelo en ratas sujetas a un modelo preclínico de alcoholismo” se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Presidente: Dra. María Isabel Miranda Saucedo

Secretario: Dr. Eduardo Adrián Garza Villarreal.

Vocal: Dra. Nayeli Páez Martínez

1er Suplente: Dr. José Gerardo Rojas Piloni

2do Suplente: Dr. Sarael Alcauter Solórzano

Aprobado por el comité académico

Dra. Maricela Luna Muñoz

Coordinadora del programa de Maestría en Ciencias (Neurobiología)

A mis padres

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por la beca otorgada durante la maestría CVU 1022706.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y especialmente al Instituto de Neurobiología (INB) por permitirme cursar el posgrado de maestría en ciencias.

A mi madre, pues sin ella nada de esto hubiera sido posible. Por su apoyo en todos los sentidos.

A mi padre, por hacer nacer en mí el amor por la ciencia y el conocimiento.

Al Dr. Eduardo Garza, por brindarme las facilidades y la oportunidad de pertenecer a su laboratorio.

Al Dr. Gerardo Rojas Piloni por sus comentarios y apoyo técnico sobre mi trabajo.

Al Dr. Román Vidal Tamayo por sus correcciones y comentarios.

Al Dr. Mallar Chakravarty por permitirme acceder a la plataforma de supercómputo Niagara.

Al Dr. Luis Concha, por permitirnos hacer uso de la URRRA.

A la M. en C. Adriana González-Gallardo de la Unidad de Proteogenómica, por su instrucción y amabilidad.

Al Laboratorio Universitario del Bioterio, especialmente al MVZ. José Martín García, Dra. Alejandra Castilla y a la Dra. María A. Carbajo.

A la Unidad de Análisis Conductual dirigida por la Dra. Deisy Gasca.

A la Unidad de Enseñanza, especialmente a la Dra. Nuri Aranda.

A Diego Ángeles, por apoyarme e instruirme cuando lo necesité.

A Alejandra López, por tenerme paciencia y siempre responder a mis preguntas, tanto técnicas como teóricas.

Resumen

El desorden por consumo de etanol (AUD), es uno de los problemas más grandes que azota a México y al mundo, este se define como el excesivo consumo de etanol que afecta a la salud física y mental. El cerebelo, por sus capacidades modulatorias generales, puede ser una diana importante en el tratamiento y entendimiento del AUD. Sin embargo, aún se desconoce qué regiones del cerebelo y de qué modo actúan sobre el AUD. Este estudio tiene la finalidad de explorar el efecto de una exposición crónica al etanol sobre un modelo de ratas Wistar para determinar los efectos de este sobre las diferentes regiones del cerebro, particularmente del cerebelo. Este modelo, denominado de acceso intermitente a dos botellas (IA2BC), consiste en exponer a ratas Wistar adultas jóvenes (P45) durante 20 sesiones a etanol al 20% y a una alternativa de agua. Posteriormente se hicieron análisis funcionales con el nuevo software denominado RABIES y FSL. Durante estos análisis se encontraron diferencias significativas en la conectividad de Crus I y II, al igual que el Vermis, en el cerebelo. Esto sugiere que una exposición crónica al etanol induce cambios en el cerebelo, lo que vuelve a la rata más vulnerable a sufrir AUD, esto debido a la pérdida de capacidades regulatorias asociadas al cerebelo.

Abstract

Alcohol Use Disorder (AUD) is one of the major problems afflicting Mexico and the world. It is defined as the excessive consumption of ethanol that affects physical and mental health. The cerebellum, due to its general modulatory capacities, can be a key target in the treatment and understanding of AUD. However, it is still unknown which regions of the cerebellum are involved and how they impact AUD. This study aims to explore the effect of chronic ethanol exposure on a Wistar rat model to determine its effects on different brain regions, particularly the cerebellum. This model, called Intermittent Access to Two Bottles (IA2BC), involves exposing young adult Wistar rats (P45) to 20% ethanol and an alternative of water over 20 sessions. Subsequently, functional analyses were conducted using the new software called RABIES and FSL. During these analyses, significant differences in the connectivity of Crus I and II, as well as the Vermis, were found in the cerebellum. This suggests that chronic ethanol exposure induces changes in the cerebellum, rendering the rat more vulnerable to experiencing AUD. This vulnerability is attributed to the loss of regulatory capacities associated with the cerebellum.

Índice

Agradecimientos	4
Resumen	5
Abstract	6
Introducción	9
Historia de la investigación cerebelar	9
El proceso adictivo y su rol en el desorden de consumo de etanol	11
Antecedentes	13
Características generales de los desórdenes de consumo	13
Desorden por consumo de Alcohol	15
Modelos animales para el estudio del desorden por consumo de alcohol	17
Diferencias funcionales entre sexos y edades	18
Anatomía funcional del cerebelo y su relación a los desórdenes de consumo	18
El cerebelo y los ganglios basales	22
Conectividad funcional del cerebelo	23
Imagen por resonancia magnética de conectividad de redes funcionales en reposo	25
Modelo IA2BC	26
Planteamiento del problema	26
Pregunta de investigación	27
Hipótesis	27
Objetivo general	27
Objetivos particulares	28
Materiales y métodos	28
Sujetos	28
Normatividad	28
Materiales	29
Métodos	29
Diseño experimental	30

Análisis de datos.....	32
Adquisición de imágenes por resonancia magnética.....	32
Pre-Preprocesamiento de imágenes anatómicas.....	32
Preprocesamiento de las imágenes funcionales basado en RABIES.....	33
Corrección por confusión de variables	34
Análisis	35
Resultados	36
Modelo general de consumo de etanol.....	36
Resonancia funcional y redes	41
Discusión.....	43
Alcances y limitaciones	47
Conclusión.....	48
Referencias	49

Introducción

Historia de la investigación cerebelar

En el pasado, la función cognitiva del cerebelo había sido una cuestión de debate intenso en la comunidad científica, no así su rol en la integración y coordinación motora (Reeber et al., 2013). Generalmente, se aprende que la función principal del cerebelo es coordinar la actividad motora del organismo mediante el reconocimiento de patrones neuronales, mismos que el cerebelo usa para predecir los movimientos óptimos para cada circunstancia (D'Angelo et al., 2012). Esto último es claramente visible en casos de daño cerebelar, en donde esta habilidad para reconocer patrones se ve impedida, llevando a un conjunto de problemas motores denominado ataxia (Ashizawa et al., 2016).

Marie Jean-Pierre Flourens, uno de los pioneros en el estudio empírico del cerebelo, determinó que el daño al cerebelo en palomas podía quitarles la capacidad de vuelo, no a raíz de debilidad sino de una pérdida en la capacidad de coordinar su aleteo (Yildirim et al., 2007). En particular, Jean-Pierre fue el que descubrió que el movimiento no se origina en el cerebelo, solo lo coordina. Fue más adelante, con otros fisiólogos como Luigi Luciani (Habas, 2021), que hizo cerebelotomías en perros, que quedó bien cimentada la idea de que el cerebelo tenía una función vital en la coordinación motora más no era el origen del movimiento mismo. Fue a causa de estas investigaciones que se determinó que “sin importar qué otras funciones este pudiera tener, el cerebelo actúa como el centro que preside sobre el equilibrio y la coordinación muscular general”. Por último, fueron las observaciones de investigadores como Sanger Brown y Babinski las que consolidaron la idea de que el cerebelo únicamente está involucrado en el control motor, una perspectiva que se convirtió en un bastión de las neurociencias de aquella época (Habas, 2021).

No fue sino hasta después de los 80s que se comenzó a aceptar el papel del cerebelo en funciones cerebrales distintas, en particular, su papel en la modulación de la cognición y del comportamiento (Baillieux et al., 2008; Carta et al., 2019; Courchesne et al., 1987; Courchesne et al., 1988; Diamond, 2000). Sin embargo, a partir de la publicación de Jeremy Schmahmann

en 1997, denominada “The Cerebellum and Cognition”(J. Schmahmann, 1997; Jeremy D. Schmahmann, 2019) que el consenso científico al respecto cambió rápidamente. Ahora bien, a pesar de que el cerebelo haya sido reconocido como un centro de regulación cognitiva importante, la mayoría de los estudios siguen manteniendo una narrativa cortico-céntrica, incluso aun cuando el cerebelo sí es considerado en el estudio del fenómeno de interés, como por ejemplo, el Parkinson (Huang et al., 2018).

El cerebelo también actúa como un optimizador motor, particularmente (Shiffrin et al., 1984). Este proceso es único debido a la transición que existe entre procesamiento controlado y automático, en donde la integración de movimientos asociados a la resolución de una tarea puede ocurrir de manera incrementalmente más eficiente; es decir, movimientos que normalmente requieren del uso de las capacidades cognitivas superiores y de atención del individuo, se vuelven más estereotipadas y gradualmente inmunes a los efectos distractores de las tareas que se estén ejecutando (Koziol et al., 2014; Ramnani, 2006). Aproximaciones modernas al estudio de este fenómeno apuntan a que esto también ocurre durante procesos enteramente cognitivos (Srivastava, 2015).

Desde le década de 1970 han surgido diversas teorías computacionales que han estado basadas en la anatomía y fisiología de los circuitos cerebelares que sugieren que estos circuitos pueden almacenar una especie de “memoria motora” (Blomfield et al., 1970). Algunos de estos modelos han sugerido que este almacenaje ocurre gracias a la interacción entre las células de Purkinje y sus entradas (D’Angelo et al., 2016). Es así que, en el modelo de Marr (Blomfield et al., 1970; Marr, 1969), se da una importancia particularmente grande a las interacciones entre la corteza cerebral con la cerebelar. Este último modelo sugiere que algunos comandos de alto nivel de la corteza cerebral pueden tener acceso a proyecciones de menor nivel en el cerebelo, de modo que, un movimiento puede ser desencadenado de manera completa y exitosa con solo una fracción de la información. Este tipo de asociación entre cortezas, resultaría en la habilidad del cerebelo para ejecutar movimientos complejos con relativamente poca actividad en la corteza cerebral. En 1971, Albus propuso mecanismos similares, en donde sugirió que la memoria motora estaba codificada en “fuerzas sinápticas” (Albus, 1971). Ese modelo fue capaz de predecir que el aprendizaje ocurre gracias a la activación concertada de varios grupos

neuronales y pudo diferenciar la activación corta, posteriormente asociada al movimiento, de la larga, posteriormente asociada a la memoria y al aprendizaje. (Greger et al., 2005; Lee et al., 2015; Medina et al., 2008). Esto fue, además, más adelante respaldado por el hallazgo de interacciones importantes entre la corteza, el cerebelo y el tálamo (Caligiore et al., 2017).

La forma clásica mediante la cual la corteza motora alcanza a la corteza cerebelar es vía proyecciones monosinápticas en los núcleos pontinos (J. D. Schmahmann et al., 2004). Estas proyecciones tienen un rol sumamente importante en el aprendizaje motor y su organización es conocida, especialmente en primates no humanos (Ramnani, 2006; J. D. Schmahmann et al., 2004). Además, hoy se sabe que existen aferentes similares con orígenes en la corteza prefrontal y parietal. También existe evidencia de otras vías sinápticas, como aquellas que conducen información desde el neocórtex, pero aún no se sabe con certeza cómo se organizan (Balsters et al., 2010). Sumándose a esta evidencia, a través de métodos de tractografía, se ha encontrado evidencia de proyecciones cerebelares en dirección a otras regiones del cerebelo, en particular, mediante el tracto cortico-ponto-cerebelar que puede ser el principal responsable de la integración cortico-cerebelar (Kamali et al., 2010).

El proceso adictivo y su rol en el desorden de consumo de etanol

Dado que, en las últimas décadas, ha surgido un creciente cuerpo de evidencia sobre el rol del cerebelo en el comportamiento que este se ha convertido en un objeto importante en el estudio de las anomalías en este, como lo son los desórdenes del consumo y, en particular, el desorden del consumo del etanol. En términos sociales, el entender los efectos de los desórdenes del consumo jamás ha sido más importante, con un incremento generalizado en el consumo de sustancias adictivas, el desarrollar tratamientos y soluciones se ha vuelto una tarea de gran importancia para la ciencia médica (Collaborators, 2018).

El estudio del comportamiento adictivo tiene una alta complejidad debido a que requiere un profundo conocimiento y entendimiento de los diversos factores biológicos, cognitivos y sociales que contribuyen a él. Las operaciones neurológicas representan

interacciones precisas de sistemas interdependientes que cooperan unos con otros para producir comportamientos, pensamientos, y estados emotivos. Los desórdenes del consumo alteran algunas de estas interacciones de manera que generan comportamientos anormales, en particular, pueden generar un comportamiento de búsqueda de la sustancia que formó el desorden, debido a la sensación gratificante asociada a esta (George R. Uhl et al., 2019).

Aunque hay un cuerpo creciente de investigación que indica que el cerebelo es una parte fundamental en el proceso adictivo (Moulton et al., 2014), el consenso científico aún mantiene al sistema mesocorticolímbico como el sistema central en nuestro entendimiento de los desórdenes del consumo (Volkow et al., 2016). Durante el trastorno del consumo, múltiples funciones y sistemas se ven afectados, ya sea de manera directa o indirecta, por lo que es de mucha ayuda identificar las operaciones de los diversos componentes cerebrales, no de forma separada, sino como partes de un todo (George R. Uhl et al., 2019).

Al igual que con otras sustancias que generan desórdenes de la adicción, el etanol hace énfasis en paradigmas de refuerzo positivo en la intoxicación recreacional, mismos que después se convierten en procesos de refuerzo negativo; es decir, el desorden de consumo de etanol comienza como un proceso de intoxicación placentero y evoluciona a una condición en donde el individuo busca evitar las consecuencias deletéreas de la abstinencia. Este proceso consta de tres fases, intoxicación, abstinencia y anticipación, cada una con sus respuestas fisiológicas y conductuales características (Volkow et al., 2016). En cada una de estas etapas, diferentes regiones cerebrales se ven involucradas, pues sus funciones normales se ven alteradas, en particular las del procesamiento emocional, del autocontrol y las vías de la recompensa.

Antecedentes

Características generales de los desórdenes de consumo

Junto con el sistema mesocorticolímbico, estas estructuras cerebrales proveen la base funcional de la motivación, control de impulsos e incluso la emotividad asociada a los sistemas hedónicos en el cerebro. Las estructuras límbicas se encargan de asociar a diversos eventos valores hedónicos (Haber et al., 2010), similares en función a los pesos funcionales propuestos por Albus (Albus, 1971), en el caso del cerebelo.

La dopamina es el facilitador clave en estas operaciones motivacionales, incluso aunque no se trate de un elemento indispensable en la formación de la conducta. (Trujillo-Pisanty et al., 2020). Una característica común en todos los desórdenes del consumo de diferentes sustancias es que la actividad dopaminérgica se ve aumentada en el sistema mesocorticolímbico. Esto lleva a lo que se ha descrito como un circuito de recompensa (Haber et al., 2010). El cómo se mantienen los niveles de dopamina cambia según el agente en cuestión, pero generalmente son de facilitación directa o de inhibición de los mecanismos de degradación o asimilación. En ambos casos, esto desemboca en un incremento en la concentración de dopamina que está asociada al refuerzo positivo de las sustancias que generan desórdenes del consumo (Taylor et al., 2013).

Muchas teorías prominentes del desorden del consumo postulan que este progresa desde el uso hedónico voluntario a uno más habitual, que se vuelve compulsivo y es caracterizado por un comportamiento de búsqueda de la sustancia, incluso aun cuando se entienden las consecuencias del abuso de la sustancia adictiva (Taylor et al., 2013). Esta evidencia está respaldada por estudios de neuroimagen que muestran que tanto las estructuras involucradas, en conjunto de los cambios morfológicos y funcionales, son diferentes en el uso recreativo que en los desórdenes de consumo, confirmando que se trata de dos etapas distintas tanto en términos sociales como neurobiológicos (Suckling et al., 2017). A su vez, el proceso de desorden de consumo ha sido descrito como un ciclo de tres fases: intoxicación, abstinencia y anticipación (Volkow et al., 2016).

En la primera etapa, la intoxicación, los factores más importantes son la farmacocinética y el método de administración del agente farmacológico. Por ejemplo, en el caso del alcohol, la inhalación de etanol volatilizado es una ruta más rápida de asimilación a comparación del consumo por vía oral (Gilpin et al., 2008), que también resulta en una respuesta biológica más intensa. Además, diferentes sustancias provocan diferentes niveles de activación de las vías dopaminérgicas, el etanol en particular, incrementa en un 20% la concentración extracelular de dopamina en el núcleo accumbens (G. F. Koob, 2013).

En la segunda etapa, la abstinencia, ocurre una desregulación progresiva que está asociada a los efectos fisiológicos y afectivos deletéreos del retiro de la sustancia en cuestión. Sin embargo, es importante notar que la experiencia subjetiva y fisiológica de este fenómeno es muy variable entre las sustancias que generan desórdenes del consumo. La abstinencia aguda de etanol, consiste de una sobreactivación del sistema nervioso central, pues la actividad inhibitoria del etanol, que surge a raíz de la actividad aumentada de los receptores GABA, es eliminada (Jesse et al., 2017). Una vez que los síntomas agudos de la abstinencia han disminuido, diversos cambios en la conectividad funcional y en la actividad de los neurotransmisores pueden permanecer. En particular, la atenuación de las vías de recompensa dopaminérgica, en conjunto de una disminución en la expresión de los receptores de dopamina, pueden permanecer; esto puede resultar en un estado de anhedonia crónico cuando no se consume la sustancia, mismo que se asocia a los desórdenes del consumo (George F. Koob et al., 2010).

En la tercera etapa, la anticipación, el individuo, ya en un estado anhedónico, busca su sustancia de elección para aminorar los efectos indeseables de su condición. Cuando ya existe un proceso del desorden del consumo, el estado de recompensa se ve fuertemente ligado al estado de intoxicación, mientras el estado de refuerzo negativo se asocia al estado de abstinencia; el mismo desorden del consumo provoca que los síntomas creados por la abstinencia permanezcan vigentes incluso después de que las consecuencias agudas del consumo ya se desvanecieron. Esta batería de etapas y sus respectivos síntomas, crean una red de asociación que dejan al individuo sensible a las señales condicionantes que fueron acopladas a la sustancia en cuestión (Volkow et al., 2016). La exposición a tales señales detonantes está asociada a activaciones de bajo nivel en el sistema corticomesolímbico en anticipación al

consumo de la sustancia. El trabajo de Volkow y colaboradores ha mostrado que este estado es muy poderoso, desencadenando una gran activación neuronal después de consumir la sustancia, mismo que no ocurre cuando el individuo no ha acoplado señales detonantes al desorden de consumo (Volkow et al., 2003).

Desorden por consumo de Alcohol

El trastorno por consumo de alcohol (Alcohol Use Disorder, AUD) es una enfermedad conductual en donde el sujeto es incapaz de regular o detener su consumo de etanol por voluntad propia. Esto desemboca en un consumo de grandes cantidades de etanol que son deletéreas para la salud del sujeto, tanto en términos fisiológicos como cognitivos (G. R. Uhl et al., 2019). Existen varias métricas y escalas para evaluar tanto el daño fisiológico como el cognitivo derivado del AUD, sin embargo, la cuarta edición del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-IV) utiliza una escala que va desde leve hasta grave, dependiendo de la presencia y severidad de los síntomas ahí enlistados (Pull, 1995).

El AUD puede evaluarse según la búsqueda compulsiva y consumo de etanol, la pérdida de la habilidad de la autorregulación del consumo de etanol y la presencia de estados emocionales negativos como la disforia, la ansiedad o la irritabilidad (Wackernah et al., 2014). En particular, la quinta edición del DSM (DSM-V) (Arlington, 2013) acopla el consumo y la dependencia al etanol como un misto trastorno, denominado AUD y, en humanos, se utilizan las siguientes métricas para determinar niveles de este desorden:

- A) Un modelo problemático de consumo de etanol que provoca un deterioro o malestar clínicamente significativo y que se manifiesta al menos por dos de los hechos siguientes en un plazo de 12 meses.
 - a. Se consume etanol con frecuencia en cantidades superiores al promedio, esto es 5 copas o más para hombres y 4 copas o más para mujeres.
 - b. Existe un deseo persistente o esfuerzos fracasados de abandonar o controlar el consumo de etanol.

- c. Se invierte mucho tiempo en las actividades necesarias para adquirir etanol, consumirlo o recuperarse de sus efectos.
- d. Ansiedad o un poderoso deseo o necesidad por consumir etanol.
- e. Consumo recurrente de etanol que lleva al incumplimiento de los deberes fundamentales en el trabajo, la escuela o el hogar.
- f. Consumo continuado de etanol a pesar de sufrir problemas sociales, como la violencia o el incumplimiento de responsabilidades laborales, o interpersonales persistentes o recurrentes, provocados o exacerbados por los efectos del etanol.
- g. El consumo de etanol provoca el abandono o la reducción de importantes actividades sociales, profesionales o de ocio.
- h. Consumo recurrente de etanol en situaciones en las que provoca un riesgo físico.
- i. Se continúa con el consumo de etanol a pesar de saber que se sufre un problema físico o psicológico persistente o recurrente probablemente causado o exacerbado por el etanol.
- j. Tolerancia, definida por alguno o varios de los siguientes hechos:
 - i. Una necesidad de consumir cantidades cada vez más grandes de etanol para conseguir la intoxicación o el efecto deseado.
 - ii. Un efecto notablemente reducido tras el consumo continuado de la misma cantidad de etanol.
- k. Abstinencia, manifestada por alguno de los siguientes hechos:
 - i. Presencia del síndrome de abstinencia característico del etanol.
 - ii. Se consume etano, o una sustancia con efectos parecidos, para aliviar o evitar los síntomas de la abstinencia.

A pesar de múltiples críticas al DSM-V, principalmente basadas en la amplitud de sus criterios de evaluación (Pickersgill, 2014), estas características son de suma utilidad en la determinación de la presencia del AUD en humanos, sin embargo, no es tan sencillo determinar este tipo de desórdenes en modelos animales.

Modelos animales para el estudio del desorden por consumo de alcohol

Los modelos animales han sido sumamente útiles desde que fueron concebidos hace cientos de años en laboratorios alquímicos, sin embargo, han evolucionado casi tanto como la ciencia misma desde aquel entonces, tanto en términos de sofisticación como de adaptabilidad. Es a través de estos modelos animales que se ha logrado un íntimo entendimiento de la neurobiología y del cerebro mismo, incluso en términos de desórdenes psicológicos (Spanagel, 2017). Aunque la validez de modelos animales ha sido cuestionada en el estudio de diversos problemas psiquiátricos, principalmente debido a la distancia evolutiva de otros animales y entre los humanos, han surgido estudios robustos que demuestran su efectividad y validez cuando se trata de estudiar desórdenes de la adicción, el AUD entre ellos (Bespalov et al., 2016).

Los animales buscan y consumen sustancias psicoactivas de manera voluntaria; de hecho, si se les permite acceso irrestricto a sustancias como la cocaína o la heroína, es probable que las consuman hasta llegar a la sobredosis. Eso es especialmente interesante en animales relativamente lejanos, en términos evolutivos, de los humanos, como los roedores que pueden consumir diversas sustancias psicoactivas de manera voluntaria (Fu et al., 2015). Además, existe evidencia que el consumo de sustancias adictivas es el resultado de una antiquísima historia evolutiva que va más allá de los mamíferos (R. J. Sullivan et al., 2002), apoyando el uso de animales no humanos para derivar información que sería sumamente difícil de adquirir de otra manera. Por último, evidencia obtenida por Carrigan y colegas, utilizando métodos de paleobiología molecular, demostraron que la habilidad de degradar el etanol surgió unos 10 millones de años antes que el *homo sapiens*.

Ahora bien, el que los animales puedan consumir sustancias de manera voluntaria es algo muy distinto a que sus efectos sean similares o relevantes para modelos humanos de consumo, sin embargo, diversas evidencias, tanto conductuales como fisiológicas muestran que tanto roedores como otros primates tienen mecanismos relativamente similares a lo que los desórdenes de consumo refiere (Spanagel, 2017). En particular, la capacidad reproductiva

y fácil manejo de los roedores los hacen un excelente objetivo para el estudio de desórdenes del consumo en humanos.

En el caso particular del AUD en roedores, la especie *Rattus norvegicus* es particularmente útil, por su relativo gran tamaño con respecto de otros roedores y estructuras cerebrales que pueden relacionarse a estructuras cerebrales humanas (Seamans et al., 2008). Las ratas son capaces de metabolizar y degradar el etanol en acetaldehído al triple de velocidad que los humanos, sin embargo, las consecuencias del AUD son suficientemente similares en ambas especies para considerarlos un buen modelo de estudio (Boleda et al., 1991; Jadhav et al., 2017).

Entre las múltiples cepas de *R. norvegicus*, existen varias disposiciones al consumo del etanol; las ratas de las cepas Long-Evans y Wistar, parecen tener mayor disposición en comparación de otras cepas (Simms et al., 2008). Además, es útil que sean más dóciles que cepas como Sprague Dawley, pues facilitan su manejo durante la experimentación.

Diferencias funcionales entre sexos y edades

Como es de esperarse, existen diversas diferencias entre los sexos cuando se habla de conectividad funcional en los animales (Nephew et al., 2020). Sin embargo, aunque existe evidencia de cambios en el consumo de sustancias en humanos, hasta la fecha no los hay para roedores (Flores-Bonilla et al., 2020) No hay cambios significativos en el volumen y función del cerebelo hasta antes de entrar a una edad geriátrica, por lo que es factible concluir que el cerebelo se mantiene relativamente estable durante la duración de la mayoría de los modelos animales (J. A. Bernard et al., 2014).

Anatomía funcional del cerebelo y su relación a los desórdenes de consumo

Dado que el cerebelo se ha convertido en una diana interesante para el estudio, diversos grupos han intentado enfocarse en diferentes regiones de este. Sin embargo, aún son pocos los artículos que estudian al cerebelo en contexto del resto del encéfalo. Esto último es todavía más evidente en caso de publicaciones que buscan estudiar la modulación de la conducta asociada a cambios en el cerebelo.

Aunque las alteraciones cerebelares sean frecuentes en la literatura de los desórdenes del consumo, es común que queden al margen del resto del estudio, pues tradicionalmente no se ve al cerebelo como una estructura que tenga una íntima relación con estos desórdenes, sin embargo, durante las últimas 3 décadas, diversos estudios han involucrado al cerebelo en estos procesos (Kühn et al., 2012; Miquel et al., 2009; Phillips et al., 1987). El papel que tiene el cerebelo en los desórdenes del consumo puede derivarse de sus funciones no motoras, mismas que ha sido estudiadas a detalle (Jeremy D. Schmahmann, 2019; Srivastava, 2015). En pocas palabras, el cerebelo tiene aferencias con origen en los núcleos pontinos que a su vez reciben impulsos de la corteza frontal y asociativa (J. D. Schmahmann et al., 2004). Esto sumado a que las lesiones en el cerebelo han mostrado niveles de deficiencia que van más allá de los impedimentos motores (De Vidovich et al., 2016).

En humanos, el cerebelo está compuesto de dos hemisferios unidos por una estructura intermedia denominada vermis. A su vez, estos dos hemisferios están subdivididos en más lóbulos, mismos que son separados en anteriores y posteriores por la fisura primaria. El lóbulo directamente anterior a la fisura horizontal es identificado como Crus I, mientras que Crus II se encuentra del lado opuesto de la fisura (D'Mello et al., 2015). Es importante notar que, en roedores, el equivalente de estas dos estructuras es el Crus I, también llamado “área ansiforme” (Sugihara, 2018). De forma análoga a la corteza cerebral, el cerebelo tiene una capa cortical compuesta de materia gris que es soportada por un andamiaje de materia blanca.

Con base en la teoría cerebelar moderna, se ha propuesto que el cerebelo tiene una sola función generalizada: la modulación. Esto último pensando en la modulación como la capacidad del cerebelo para regular los pesos sinápticos entre diferentes funciones del cerebro, es decir, optimizar. (Ito, 2006; Jeremy D. Schmahmann, 2019). Esta teoría sugiere que el cerebelo es capaz de optimizar el rendimiento al modular el comportamiento según el contexto, actuando como una especie de amortiguador oscilatorio de la conducta. En concreto, se propone que el cerebelo puede modular los procesos emocionales mediante la integración de impulsos afectivos positivos y negativos del mismo modo que modula las habilidades motoras finas mediante la integración de impulsos sensoriales. Distintas regiones del cerebelo reciben

señales de regiones diferentes del cerebro, lo cual lleva a cambios morfofuncionales y, por consecuente, a una compartimentalización de los procesos moderatorios.

En particular, el Crus I y II, junto con los lóbulos VI y VIIb son de particular importancia durante los desórdenes del consumo (Buckner et al., 2011; Moulton et al., 2014). Estas regiones están asociadas con redes funcionales en reposo (RSN) que están relacionadas con los procesos asociativos y ejecutivos de la corteza. Las RSNs representan fluctuaciones coherentes de señales que se miden a través de diferentes redes durante el descanso (o tareas negativas) que implican relaciones funcionales entre diferentes regiones del cerebro. En este sentido, en un estudio por Buckner et.al., se identificó conectividad funcional entre el cerebelo y 7 RSNs importantes del encéfalo (Buckner et al., 2011). Crus I y II y los Lóbulos VI y VIIb presentaron todos correlatos con las regiones cerebrales encargadas del control cognitivo, como la corteza prefrontal dorsolateral y la corteza prefrontal dorsomedial. Este tipo de conectividad funcional también han aparecido en otros estudios, brindando más fuerza a la idea que estas regiones son de especial importancia en la regulación de los desórdenes del consumo (Ang et al., 2020; J. Bernard et al., 2012; Sang et al., 2012).

Este proceso de regulación es especialmente importante para Crus I y el lóbulo VI. En un estudio se encontró una correlación entre estas regiones y una RSN que incluía a la ínsula y la corteza cingulada anterior, estructuras tradicionalmente asociadas a estímulos importantes, como el dolor (C. Habas et al., 2009; Mouraux et al., 2011). Esto sugiere que, no solo el cerebelo puede tener un papel importante durante los desórdenes del consumo, sino que estas regiones son especialmente importantes en la regulación de dichos comportamientos y en la integración de muchos otros. Esta idea a su vez es respaldada por la evidencia de que existen vías dopaminérgicas recíprocas desde estas regiones hasta los ganglios basales (A. C. Bostan et al., 2010; Caligiore et al., 2017). Una de las vías de adicción asociadas al cerebelo mejor conocidas es la que involucra el desorden por uso de alcohol (AUD).

El etanol se une al receptor GABA-A para incrementar los efectos inhibidores del ácido γ -amino butírico (GABA) y se sabe que el receptor GABA-A está ampliamente expresado en el cerebelo (Carlson et al., 1997; Kaja et al., 2015; Labrada-Moncada et al., 2020). Además,

mediante estudios de imagen por resonancia magnética (MRI) se ha encontrado una comorbilidad entre déficits estructurales en el cerebelo con el AUD (Chanraud et al., 2010; De Bellis et al., 2005; E. V. Sullivan et al., 2010). En particular, se ha ligado a los AUD crónico con la pérdida de materia blanca y gris in el vermis inferior, al igual que en ambos hemisferios del cerebelo. En un estudio que utilizó morfometría basada en voxel (VBM) se encontró que aquellos pacientes con una dependencia severa al etanol tenían déficits importantes de materia gris, particularmente en Crus II, al mismo tiempo también se observó una deficiencia en la materia blanca del lóbulo VI (Chanraud et al., 2007). Estas deficiencias se correlacionaron a funciones ejecutivas degradadas. Algo que hace especialmente interesante a los cambios estructurales en Crus II y en el lóbulo VI es que también pueden ser encontrados en pacientes adictos a la cocaína y a la heroína. (Andersen et al., 1999; Sim et al., 2007)

Existe homología entre el área ansiforme en ratas con Crus I y II en primates. Las similitudes en estructura y función de estas áreas sugieren que el estudio en modelos basados en roedores puede ser traslacional a estudios humanos. Esto podría sugerir que la conectividad funcional asociada a esta área puede ser fundamental en el advenimiento de conductas adictivas, especialmente en lo que respecta al AUD, esto con base a investigaciones previas que han usado aproximaciones similares en otras regiones del cerebro para estudiar otras enfermedades, condiciones y déficits (Ersche et al., 2020; Sutherland et al., 2012; Yang Wang et al., 2019)

En un estudio de 2014 hecho por Halko y colaboradores, también se contribuyó a la idea de que Crus I y II, son dianas de interés para neuroestimulación (Halko et al., 2014). En este estudio se utilizó estimulación θ de ráfaga intermitente para evaluar la relevancia funcional de las conexiones del cerebro con el cerebelo. Se encontró que alteraciones en la actividad de Crus I y II modulan la red de modo basal (default-mode network o DMN) en el cerebro, mientras que la estimulación en el vermis y en el lóbulo VII tiene influencia sobre la red cerebral dorsal de atención. Este estudio es especialmente relevante porque es un fuerte indicador que la DMN y la red de saliencia están relacionadas con la actividad de los lóbulos “no-motores” del cerebelo, sugiriendo que, en efecto, Crus I y Crus II son importantes en la modulación de los desórdenes de consumo y, en particular, del AUD.

El desorden por consumo de etanol es un patrón del consumo con una etiología multifactorial, que ha sido asociado a diversos cambios a nivel celular y de redes neuronales, además, los cambios derivados de estas adaptaciones celulares también pueden desembocar en alteraciones conductuales negativas para el organismo (Suk et al., 2021). Es debido a esto que, diversas aproximaciones experimentales han surgido a través de las décadas, en particular las que están basadas en modelos con roedores. Aunque dichos organismos no están evolutivamente tan cercanos a los humanos como podrían estarlo otros primates, son suficientemente similares en términos neurobiológicos como para representar modelos válidos de estudio. El modelo que fue usado en esta tesis es un modelo no operante de acceso libre de autoadministración por vía oral, el cual es especialmente relevante por ser no invasivo, ser sencillo de implementar y por la similitud fundamental en la vía de consumo (Simms et al., 2008). Sin embargo, sigue siendo importante tener en cuenta otros factores como la cepa, edad y sexo de la rata, en conjunto de otras variables experimentales como lo pueden ser la concentración de etanol, los días y períodos de exposición.

El cerebelo y los ganglios basales

Si bien el cerebelo no está tan estructuralmente segregado como los ganglios basales en regiones motoras y no motoras, hay diversos motivos por los que el cerebelo se ha convertido en una diana de interés para el tratamiento de diversos desórdenes. Una razón es, por ejemplo, que diversas anormalidades han sido encontradas en los cerebelos de aquellas personas con deficiencias motoras, como el Parkinson (Lewis et al., 2013), al igual que algunas formas de distonía (Tewari et al., 2017). También existen casos en donde se trataron problemas de consumo, de personalidad y motores mediante la estimulación profunda del cerebelo, mismos que vieron diversos niveles de éxito (Carta et al., 2019; De Vidovich et al., 2016). Otro motivo por el cual la estimulación del cerebelo ha obtenido importancia en los últimos años es que se han encontrado conexiones subcorticales bidireccionales entre los ganglios basales y el cerebelo (A. C. Bostan et al., 2010; Caligiore et al., 2017), lo cual ayuda a afianzar el rol del

cerebelo, no solo como coordinador motor, sino en otras funciones, como el aprendizaje y la regulación emocional (Carta et al., 2019; Dave et al., 2020; Srivastava, 2015).

Es posible que los ganglios basales tengan influencia sobre el cerebelo mediante proyecciones del núcleo subtalámico que pasan por el puente tronco encefálico y llegan al cerebelo (J. Bernard et al., 2012; Kamali et al., 2010; Palesi et al., 2017; Tsai et al., 2020). Esto sugiere que existirá actividad en paralelo de estas áreas, misma que podría ser detectada con técnicas de resonancia magnética funcional. Y de un modo análogo, el cerebelo podría influir en la actividad de los ganglios basales mediante proyecciones con origen en el cerebelo profundo que pasan por los núcleos talámicos para llegar a los ganglios basales (A. C. Bostan et al., 2010; Caligiore et al., 2017; Ogundele et al., 2017). Estas interacciones probablemente involucran diversos neurotransmisores como el GABA, el glutamato, la dopamina y la glicina, mismos que tienen distintos roles durante la regulación. (Uusisaari et al., 2012). Es por esto que la modulación de alguno de estos sistemas, de ganglios basales o cerebelar, tiene el potencial de crear cambios importantes en el otro.

Conectividad funcional del cerebelo

Hasta la fecha, han existido una gran variedad de estudios que han buscado determinar la conectividad funcional del cerebelo consigo mismo y con el resto de la corteza. Estos estudios han hecho uso de una aproximación por resonancia magnética denominada conectividad funcional en descanso (rsfcMRI) (Krienen et al., 2009; O'Reilly et al., 2009). Sin embargo, han sido relativamente pocos los trabajos que han hecho este tipo de análisis con base en la segregación anatómica del cerebelo (J. Bernard et al., 2012), misma que es importante entender si se busca crear nuevas técnicas de tratamiento.

Estudios mediante técnicas tractográficas en primates no humanos han ayudado en la determinación de las interacciones cerebro-cerebelares. En estos estudios se ha encontrado que el cerebelo tiene agrupaciones eferentes y eferentes de interés, pues éstas se dirigen y provienen de la corteza. En particular, el cerebelo anterior (lóbulos IV, V y VI), y el lóbulo

VIIIa forman una red con la corteza primaria motora, mientras que el lóbulo posterior de Crus II tiene conexiones con el área 46 de la corteza primaria en los primates (R. M. Kelly et al., 2003). Otra característica que ha sido de interés en la investigación es que también existen otras proyecciones que se dirigen a la corteza motora y prefrontal, mismas que surgen del núcleo dentado (Dum et al., 2003). De igual forma, existen proyecciones que surgen del cerebelo a los ganglios basales (A. C. Bostan et al., 2010; Tewari et al., 2017) y otras que surgen de los ganglios basales y van al cerebelo (Andreea C. Bostan et al., 2010), es decir, se encuentran interconectados. Otra estructura cerebelar que antes se creía que solo recibía entradas de la medula espinal es el vermis; ahora se sabe que el vermis también recibe información de la corteza motora a través de una vía cortico-rubro-cerebelar (J. D. Schmahmann et al., 2004).

En algunos estudios de neuroimagen en humanos, se ha podido corroborar una fracción importante de la información obtenida en modelos de primates no humanos. En un meta análisis, Stoodley y Schmahmann (Stoodley et al., 2009) demostraron que las áreas cerebelares que modulan funciones motoras son funcional y anatómicamente distintas de aquellas que se encargan de actividades no motoras y cognitivas. Este análisis de Stoodley y Schmahmann es a su vez apoyado por un estudio de resonancia funcional en donde se sugiere que la región del cerebelo que es la principal encargada de modular tareas motoras es el cerebelo anterior, por el otro lado, el cerebelo posterior es el principal encargado de la modulación de tareas cognitivas, como la memoria (Stoodley et al., 2012).

Además, hay un gran cuerpo de evidencia que apoya la idea de que las redes de conectividad funcional en reposo pueden tener análogos anatómicos y funcionales en ratas; en particular, existen redes putativas de saliencia (Grandjean et al., 2017; Tsai et al., 2020) y de modo basal (Grandjean et al., 2020), mismas que también se encuentran en humanos y se ha visto están afectadas en el AUD y otros desórdenes de la adicción (Canessa et al., 2021; Zhang et al., 2019). Como nota adicional, también hay un cuerpo creciente de evidencia que apoya que existe una red ejecutiva central en roedores, sin embargo, sigue siendo controversial (Kamigaki, 2018).

Imagen por resonancia magnética de conectividad de redes funcionales en reposo

La rsfcMRI se ha vuelto un excelente método para responder preguntas que tienen que ver con las redes funcionales del cerebro. La rsfcMRI nos permite responder preguntas sobre las interacciones entre el cerebelo y la corteza cerebral en los cerebros de organismos muy diversos. Incluso en sujetos que pueden estar incapacitados o ser de difícil manejo, como es el caso de animales o de sujetos humanos con alguna enfermedad, es posible medir una gran variedad de fluctuaciones en la señal dependiente de oxígeno (BOLD) que puede mostrarnos correlaciones entre la actividad de distintas áreas con base en el requerimiento metabólico del cerebro en diferentes áreas (Fox et al., 2007; Schölvinck et al., 2010).

En los últimos 20 años han surgido muchos estudios enfocados a humanos que han buscado describir estas conexiones del cerebelo con el resto de la corteza (Allen et al., 2005; Krienen et al., 2009). En particular, Allen y colaboradores (Allen et al., 2005) demostró que la señal en reposo del núcleo dentado tenía una fuerte correlación con la actividad de las cortezas motoras, prefrontales y parietales. Estudios posteriores utilizando técnicas de rsfcMRI comenzaron a apoyar la idea de que estas redes funcionales se segregan de manera anatómica en los lóbulos del cerebelo. Esta aproximación es de interés debido a que deja en claro qué regiones pueden o no ser responsables de una amplia gama de comportamientos, como lo son los desórdenes de consumo, y patológicos, como lo puede ser la ataxia o ciertos desórdenes de la personalidad (Halko et al., 2014; O'Reilly et al., 2009; Stoodley et al., 2012).

Las porciones anteriores del cerebelo, en conjunto de los lóbulos VIIIa y VIIIb forman parte de las redes motoras y tienen proyecciones a diferentes regiones del lóbulo parietal (J. Bernard et al., 2012); por otro lado, la mayoría de las regiones del lóbulo posterior forman parte de redes dedicadas a la cognición, específicamente debido a sus proyecciones a los lóbulos prefrontales, parietales y ganglios basales. Habas y colaboradores determinaron en 2009 (Christophe Habas et al., 2009) que el cerebelo contribuye de manera significativa a varias redes corticales de conectividad intrínseca, como lo son la de modo basal, la red de saliencia y la red ejecutiva.

Una contribución importante al estudio de la conectividad funcional del cerebelo, fue aquella hecha por el grupo de investigación de Bernard y colaboradores (J. Bernard et al., 2012) en 2012, en donde, mediante una aproximación lobular al estudio de la conectividad funcional del cerebelo, lograron generar un atlas. Este atlas ha sido útil en la comparación de conectividad funcional entre primates y otros animales; además también se ha vuelto una herramienta muy útil en la comparación de diversos estudios de rsfcMRI en humanos (Payne et al., 2021; Sheu et al., 2021). Además, los atlas de esta naturaleza han demostrado ser útiles en el estudio de varias enfermedades, en donde la afectación a distintos lóbulos puede ser crítica para brindar un diagnóstico correcto, como lo puede ser en desórdenes del consumo (Habas, 2021; Yanpei Wang et al., 2021).

Modelo IA2BC

El protocolo de acceso intermitente de elección a dos botellas (IA2BC) se creó con base en la publicación de Simms (Simms et al., 2008), misma que a su vez es una adaptación del protocolo ideado por Wise en 1973 (Wise, 1973). Este modelo fue seleccionado debido a la facilidad de su implementación y a su validez como técnica preclínica de estudio. Este modelo es de acceso intermitente al fármaco que genera desórdenes de consumo, lo cual permite que el organismo modelo ingiera el fármaco de forma escalada, que se capture el patrón temporal de consumo reportado en humanos, que incremente la motivación del organismo modelo por intoxicarse y, en consecuencia, que el modelo tenga buena validez a raíz del consumo voluntario incremental. Por otro lado, la elección de botellas descrita en el modelo es fácil de implementar, tiene una buena correlación entre etanol ingerido y concentración etílica en sangre y con una buena validez aparente (Ewin et al., 2019).

Planteamiento del problema

La información que actualmente existe que hable de las interacciones entre el cerebelo y otras regiones del encéfalo durante los procesos de adicción y, en particular, durante el trastorno por consumo de etanol, son prácticamente inexistentes. Actualmente se ha tomado mayor relevancia en el rol del cerebelo en múltiples funciones cognitivas y no motoras. Si

partimos del cerebelo como el “gran optimizador” del cerebro, podemos pensar que los procesos conductuales que requieren de cambios plásticos tienen que estar íntimamente relacionados con el cerebelo.

Para poder estudiar estos cambios funcionales del cerebelo durante los procesos de adicción es posible utilizar ratas como modelo experimental. Las ratas son un buen modelo debido a las similitudes de su cerebelo con el de los humanos, en particular, en términos de su modularidad y estructura general. Es importante notar que las ratas, según nuestras definiciones, no pueden desarrollar un desorden del consumo, puesto que estos solo están definidos para los humanos, pero podemos aproximarlos cuando medimos diferencias en la tasa de consumo a lo largo del tiempo, es decir, en un modelo de consumo crónico.

Pregunta de investigación

¿El consumo crónico de etanol en ratas Wistar puede cambiar la conectividad funcional del cerebelo en la red de modo basal?

Hipótesis

1. Si ratas Wistar consumen etanol de manera crónica, delimitado por un modelo crónico de acceso intermitente a dos botellas durante 45 días, entonces surgirán cambios en las interacciones del cerebelo con la red de modo basal.
2. Si surgen cambios en la activación funcional cerebelar, a raíz de un incremento del consumo de etanol, entonces también habrán cambios en regiones corticales del cerebro.

Objetivo general

Determinar si el consumo crónico de etanol en ratas Wistar puede cambiar la conectividad funcional del cerebelo en la red de modo basal.

Objetivos particulares

- Determinar si existen cambios funcionales por imagen de resonancia magnética en los lóbulos posteriores del cerebelo de las ratas con consumo de etanol crónico delimitado por el modelo de acceso intermitente a dos botellas durante 45 días.
- Encontrar si la red de modo basal y el cerebelo se ven afectados de forma significativa por un modelo animal de consumo crónico de etanol.

Materiales y métodos

Sujetos

Ratas de la especie *Rattus norvegicus* de la cepa Wistar fueron seleccionadas a 21 días de su nacimiento, mismas que son proporcionadas por el bioterio del Instituto de Neurobiología. Los sujetos fueron alojados a una temperatura de $21 \pm 2^\circ \text{C}$, con acceso de alimento *ad libitum*, y sujetos a condiciones de ciclo invertido luz/oscuridad de 12 horas. Los sujetos se colocaron en grupos de 4 individuos por caja de policarbonato, mismos que fueron separados en cajas individuales una vez que llegaron al día postnatal 25. Una vez que fueron separados también se cambiaron los bebederos para iniciar la habituación a las botellas antigoteo de 125mL de la marca RedKit.

Normatividad

El presente trabajo forma parte del proyecto: “Neuromodulación como intervención terapéutica en uso de sustancias: efectos y mecanismo de acción” aprobado por el comité de ética en investigación del instituto de neurobiología con el número 119.A, el cual se apega a la Norma Oficial Mexicana “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio” (NOM-062-ZOO-1999) y todos los reglamentos internos del Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM.

Materiales

Modelo preclínico de consumo crónico de etanol (IA2BC)

1. Bebederos antigoteo 125mL de marca RedKit
2. Cajas de policarbonato para alojamiento individual con una base de 632cm²
3. Cuarto de alojamiento con ciclo invertido de 12 horas luz/oscuridad

Valoración conductual

1. Laberinto de cruz elevado
2. Caja de policarbonato de tres secciones para la prueba de reconocimiento de objeto novedoso

Métodos

Una vez alcanzados los 21 días de vida (postnatal 21 o P21), las ratas son alojadas en grupos de 4 en cajas de policarbonato, mismas que se ubican en un cuarto del bioterio sujeto a un ciclo de luz invertida a 12 horas. A la par de su habituación al ciclo invertido, inicia la habituación a dos botellas (bebedero RedKit 125mL) con boquilla metálica antigoteo. El paradigma de IA2BC comienza en P45 y tiene una extensión total de 45 días, donde se van alternando días de exposición al etanol con días de exposición a solo agua purificada. Cada sesión dura 24 horas y las sesiones de etanol son aplicadas los días lunes, miércoles y viernes. Durante todas las sesiones se expone a las ratas a dos botellas idénticas con 100mL de agua purificada, exceptuando los días de exposición al etanol en donde una botella tiene 100mL de una disolución al 20% de etanol.

Los datos a registrar por este método experimental son los siguientes:

- Toma principal de etanol a las 24 horas
 - Medida del consumo de etanol a las 24 horas con unidades de g/kg

- Los gramos representan la medida inicial del bebedero con una disolución de etanol al 20%, este se divide entre el peso de la rata expresado en kilogramos.
- Toma total de etanol
 - Medida de consumo de etanol a las 24 horas en unidades de mL/kg
 - 100mL de una disolución de etanol al 20% y a una temperatura de 20°C pesa 95.554g

Diseño experimental

El tiempo 1 (T1) comienza con el destete de las crías en el día 21 postnatal. En el día P35 comienza la habituación a dos botellas según el protocolo de IA2BC descrito por Simms y colaboradores (Simms et al., 2008). La prueba de acceso intermitente IA2BC inicia en el día P45. El modelo tiene una duración de 45 días que incluye 20 sesiones de exposición al etanol, que involucran dos botellas, una con una disolución de etanol al 20% y otra con agua purificada, ambas con un volumen total de 100mL. El tiempo 2 (T2) comienza al término del modelo inicial y consiste, inicialmente, de un período de 20 días de abstinencia que incluye más pruebas de comportamiento que inician en el día P100. Una vez concluida esa ronda de pruebas conductuales inicial el tiempo 3 (T3), en donde busca medirse la recaída por la reexposición al etanol. En el T3 se reinicia el modelo de IA2BC en el P110, el cual concluye en P144 e incluye evaluaciones conductuales en el día P138. En la Figura B1 se puede apreciar más claramente. Así mismo, se utilizó una muestra inicial de 48 sujetos, la cual se describe a mayor detalle en la Tabla B1. Sin embargo, es importante notar que no toda la muestra pudo usarse para el análisis final, esto derivado de los siguientes criterios de exclusión:

- Imágenes con artefactos de movimiento que no permitieran la correcta distinción de las características anatómicas del sujeto.
- Imágenes que no pudieran ser corregistradas correctamente con las máscaras del atlas Sigma para ratas.
- Imágenes con anomalías anatómicas prominentes (quistes, hidrocefalia, etc.).
- Imágenes que no hayan podido trasladarse correctamente al espacio estándar del análisis.

- Sujetos en donde alguna de sus adquisiciones haya sido excluida por alguna de las razones aquí descritas.
- Sujetos que no hayan sobrevivido al protocolo completo.

Después de ser sujetos a estos criterios de exclusión, se eliminaron 9 sujetos, 5 hembras y 4 machos, todos partes de algún grupo experimental.

Modelo	Muestra (n)	Hembras grupo control	Machos grupo control	Hembra grupo experimental	Macho grupo experimental
1	14 (8 H, 6M)	2	1	6	5
2	15 (8H, 7M)	2	2	6	5
3	19 (8H, 11M)	2	3	6	8
Totales	48 (24 H, 24 M)	6	6	18	18

Tabla B1. Distribución y organización de la muestra original, Incluye 24 machos (M) y 24 hembras (H) separado en 3 grupos experimentales.

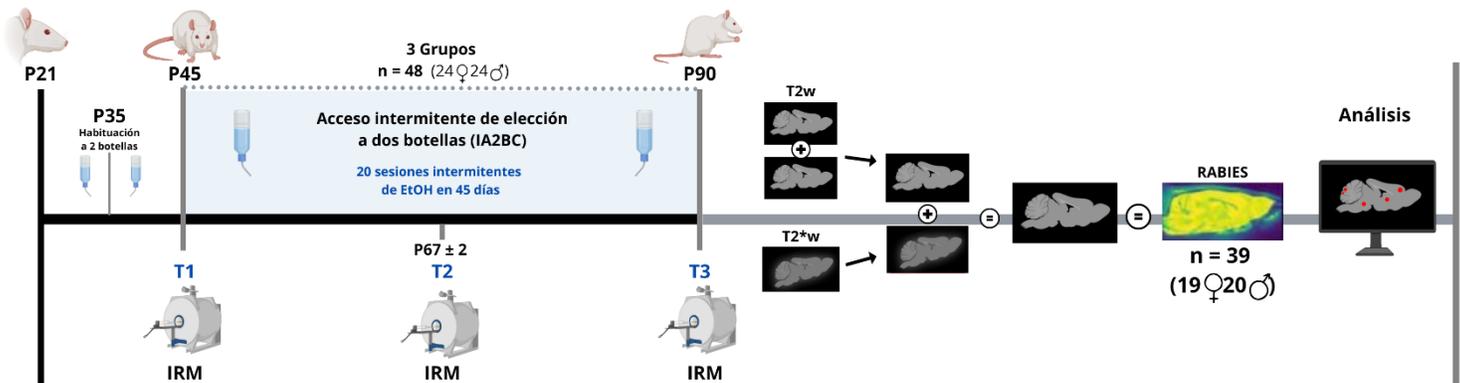


Figura B1. Diseño experimental general del modelo IA2BC, incluyendo las etapas de preprocesamiento y análisis. La población final consistió en 39 sujetos, 19 hembras y 20 machos, posterior a ser aplicados los criterios de exclusión.

Análisis de datos

Adquisición de imágenes por resonancia magnética

Las imágenes longitudinales de resonancia magnética fueron adquiridas en el Laboratorio Nacional de Imagenología por Resonancia Magnética con un escáner de 7T (Brüker Pharmascan 70/16 US) usando una bobina superficial de cabeza de rata con matriz de 2x2. Todo esto usando la interfaz de Paravision 6.0.1 y 7.0.1. Las adquisiciones se hicieron como es descrito arriba: 1) etapa T1 (~P45), 2) etapa T2 (~67), 3) etapa T3 (~P90) y 4) etapa T4 (~P145). Las secuencias adquiridas fueron imágenes ponderadas a T2 de alta resolución, dos secuencias funcionales en estado de reposo (rsfMRI) e imágenes ponderadas de difusión (DWI) con un tiempo total de 54 minutos y 54 segundos.

Los datos de resonancia para las imágenes ponderadas a T2 se adquirieron utilizando una secuencia FLASH 3D con los siguientes parámetros: TR = 30.76ms, TE=5ms, ángulo de volteo = 10°, grosor de rebanada = 25.6 mm, FOV=28.2 x 19 x 25.6 mm, voxel isométrico=160μm con dos repeticiones y dirección sagital como corte primario. Los parámetros para las secuencias de rsfMRI fueron: 1) TR = 1000ms, TE = 20ms, ángulo de volteo = 60, grosor de rebanada = 0.75mm, FOV = 30x30mm, número de rebanadas = 32, volúmenes = 334, y orientación axial como corte primario. Los parámetros de imagen DWI fueron TR = 22.86ms, TE = 2000ms, grosor de rebanada = 1mm, FOV = 22x15mm², número de rebanadas = 25, y orientación axial como corte primario con tres valores β (650, 1250, y 2000).

Pre-Preprocesamiento de imágenes anatómicas

La secuencia estructural fue convertida de formato Brüker a Nifti usando la herramienta brkraw (<https://brkraw.github.io/>), posteriormente, se realizó un promedio de estas imágenes utilizando una técnica previamente descrita por el laboratorio (<https://github.com/GarzaLab/Documentation/wiki/Average-T1w-or-T2w-repetitions-Bruker-7T>). Una vez promediadas las imágenes tuvieron sus headers modificados para su posterior compatibilidad con el software de preprocesamiento denominado RABIES. Esta modificación

del encabezado consistió en cambiar los valores de q_{form} y s_{form} a 0 y 1 respectivamente. Estos valores están asociados a la adquisición de la imagen, en particular, a su orientación.

Preprocesamiento de las imágenes funcionales basado en RABIES

El preprocesamiento de las imágenes de fMRI fue hecho con el software libre de RABIES (<https://github.com/CoBrALab/RABIES>).

Una vez promediadas, las imágenes son ajustadas según la convención neurológica RAS. De las imágenes funcionales se extrae entonces un volumen 3D representativo para el coregistro y la estimación de movimiento. Dos iteraciones de realineación al movimiento al volumen promedio se hicieron, eliminando el 5% de los valores más extremos y tomando al resto como referencia final. La imagen final fue corregida usando *denoising* basado en medias no locales (Manjón et al., 2010). Parámetros de alineación rígida fueron estimados mediante un registro rígido a las imágenes eco planares (EPI) modificadas en los pasos anteriores utilizando la función `antsMotionCorr` de Advanced Normalization Tools, también conocida como ANTs (<http://stnava.github.io/ANTs/>).

Antes del registro, la imagen EPI de referencia pasó por un proceso de eliminación de ruido basado en medias no locales (Manjón et al., 2010), seguido de la corrección iterativa de inhomogeneidades de intensidad del campo magnético durante la adquisición. El acoplamiento de máscaras fue hecho mediante umbrales de intensidad y un coregistro rígido de las máscaras derivadas del atlas de referencia (SIGMA 1.1) (Barrière et al., 2019). De una manera semejante, las imágenes anatómicas también pasaron por un proceso de corrección de inhomogeneidades y coregistro con las máscaras del atlas SIGMA.

Después de la corrección de inhomogeneidades, se generó un templado no-sesgado con base en las imágenes anatómicas de entrada. Para ello, mediante múltiples iteraciones, las imágenes fueron registradas a un promedio generado del traslape de la iteración previa con una imagen consenso. Los registros se volvieron más estrictos en cada iteración, comenzando por una doble ejecución de, primero, una generación de templado rígida, luego por Affine y, por último, mediante un templado no lineal. Este paso en particular puede generar múltiples

errores por lo que puede ser necesario volverlo a hacer. El archivo generado de este registro es entonces alineado con cada imagen. El templado no-sesgado es después registrado con el atlas SIGMA mediante una registración no lineal, suministrando las transformaciones necesarias para acoplar todas las máscaras del atlas con todas las imágenes de los sujetos.

Por último, la referencia de las imágenes EPI es coregistrada con las imágenes anatómicas para cada sujeto mediante un registro no lineal. Para cada registro, RABIES utiliza una matriz adaptativa independiente de escala construida sobre ANTs. Cada volumen del EPI es entonces muestreado utilizando las transformaciones del alineamiento *cross-modal*, corrigiendo las distorsiones de las EPI que pudieron haber ocurrido por el registro no lineal. Para esto último también se utiliza los parámetros de movimiento de la cabeza, obteniendo así series de tiempo con mínimas alteraciones a raíz del preprocesamiento. Estas transformaciones fueron concatenadas previo a su aplicación para llevar a cabo un muestreo con una sola operación, evitando la interpolación de efectos que surgen de múltiples muestreos.

Corrección por confusión de variables

La regresión por confusión de variables fue hecha con el software RABIES sobre series de tiempo de imágenes ecoplanares muestreadas en un espacio estándar utilizando el ruido de la señal en el fluido cerebroespinal y materia blanca como variables de la regresión. Primero se eliminaron las tendencias de voxel para eliminar derivas de primer orden y promediar la imagen. Después, las fuentes de movimiento fueron eliminadas automáticamente usando una versión modificada del clasificador de ICA-AROMA (Anand et al., 2020), en donde los parámetros del clasificador para máscaras anatómicas se adaptaron para funcionar en roedores. En particular, se obtuvieron 10 componentes para cada imagen usando el algoritmo MELODIC de FSL (R. E. Kelly, Jr. et al., 2010) con el propósito de eliminar los artefactos y conservar la señal BOLD.

Posteriormente, se aplicó un filtro *bandpass* (0.01-0.1Hz) usando un filtro Butterworth (Yuen et al., 2019) de 3er orden y se eliminaron 30 segundos a cada extremo de las series de tiempo para eliminar artefactos posteriores al filtrado. La eliminación de 30 segundos en los

bordes y el uso del filtro de 3er orden surgieron a partir de la visualización de artefactos en los bordes con base en datos sintéticos.

Los regresores basados en ruidos fisiológicos (ritmo cardiaco, respiración, etc.) fueron filtrados para asegurar la ortogonalidad entre los filtros de frecuencia y la subsecuente regresión por confusión de variables. Específicamente, se usó una regresión basada en cuadrados ordinarios mínimos, los 6 parámetros de movimiento rígido y la señal promedio de las máscaras de materia blanca y de fluido cerebroespinal para modelar a cada voxel. Por último, se usó un filtro Gaussiano a 0.5mm.

Análisis

El análisis consistió en 3 etapas, un análisis de componentes independientes, una regresión doble y un método de permutación. La primera etapa, el análisis por componentes independientes, fue hecho con la librería de FSL denominada MELODIC (R. E. Kelly, Jr. et al., 2010). Esta técnica se utiliza para descomponer datos de resonancia funcional en componentes espaciales independientes, con cada componente representado por un mapa espacial y un cambio en el tiempo. Se tomaron 30 componentes como parámetro, debido a los buenos resultados obtenidos y por ser un número de componentes frecuentemente utilizado en la literatura y está respaldado por diversos métodos cuantitativos (Chou et al., 2022).

La regresión doble es una herramienta que se usa como parte de un análisis a nivel de grupos de rsfMRI para identificar la contribución de sujetos específicos al análisis de componentes independientes. La salida de la regresión doble es un grupo de mapas espaciales específicos a los sujetos para cada componente que puede ser comparado entre sujetos y grupos. Para esta parte del análisis también se usó el software de RABIES usando los resultados del MELODIC para obtener los componentes independientes.

Por último, se ejecutó un análisis por permutación de variables basado en el modelo lineal general. Este paso busca hacer inferencia sobre mapas estadísticos cuando no se conoce la distribución nula, en otras palabras, a través de miles de permutaciones sobre los datos,

busca aproximar la distribución de estos. Se desconoce la distribución nula porque ni el ruido ni los datos mismos siguen una distribución simple, o porque se necesitarían métodos estadísticos no estándares para poder aproximarla. La función *randomise* de FSL permite modelado e inferencia utilizando el diseño del modelo lineal general para generar una imagen estadísticamente significativa. Un requisito para usar esta función es una comparación entre T1 y T3, es decir, un contraste que nos muestre las diferencias en conectividad a lo largo del tiempo. El componente del modelo lineal general de *randomise* fue ejecutado usando un diseño que incluía la edad, batch, sexo y grupo (control o experimental) como variables. Adicionalmente, este último análisis incluyó una corrección por múltiples comparaciones como está detallado en la documentación de FSL (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Randomise/UserGuide>).

Resultados

Modelo general de consumo de etanol

La muestra del presente proyecto consistió en 36 animales experimentales y 12 controles. El protocolo IA2BC tuvo una duración de 20 sesiones (45 días) en donde se mide peso, consumo de agua, consumo de etanol, edad y sesión del protocolo. En la figura C1, se puede observar el cambio en el consumo de etanol de los sujetos experimentales a lo largo de las sesiones de consumo durante el modelo experimental. Este cambio, a pesar de no ser significativo, tiene una clara tendencia al alza. Este cambio de consumo de etanol a lo largo de 20 sesiones está expresado como la razón de los gramos de etanol consumido por kilo de la rata por día, tal cual fue reportado inicialmente por Simms (Simms et al., 2008).

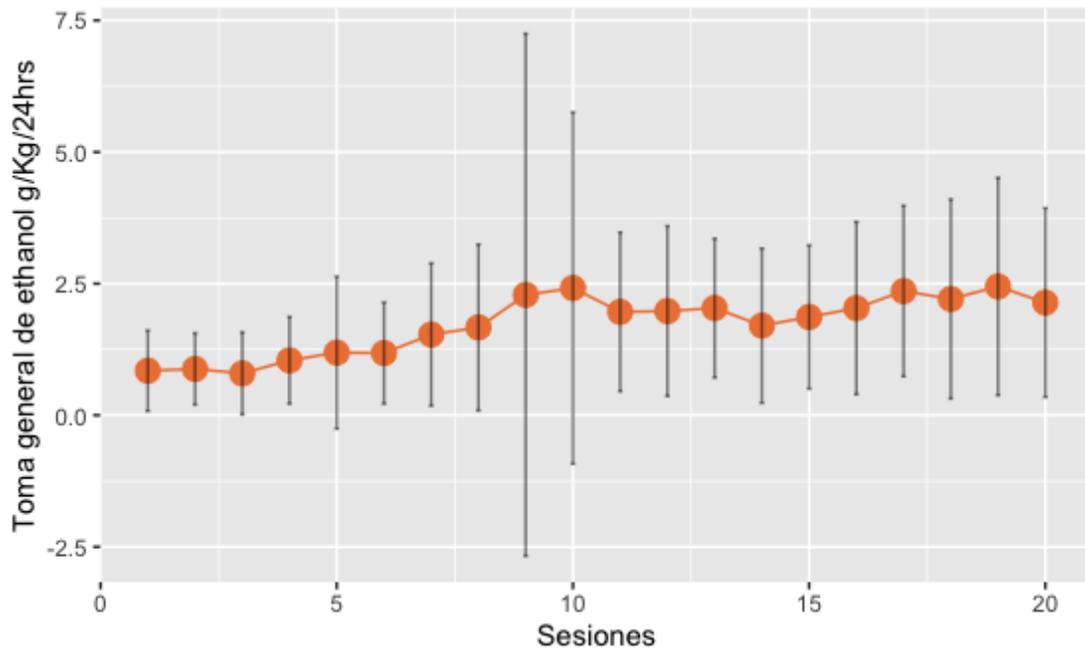


Figura C1. Consumo promedio en gr/Kg/24hr de los sujetos experimentales a lo largo de cada sesión del protocolo IA2BC con barras de error estándar.

El comportamiento de la figura C1 es lineal, mismo que se encontró con una recta con valor R de 0.62, sugiriendo que, entre más tiempo de exposición transcurre, más incrementará el consumo de etanol con respecto del peso de las ratas hasta llegar a una meseta, misma que parece aparecer a partir de la 15va sesión. Además, no se pudieron detectar diferencias significativas entre sexos, esto con base en una prueba T con un valor $P > 0.05$. Esto puede observarse en la Figura C2.

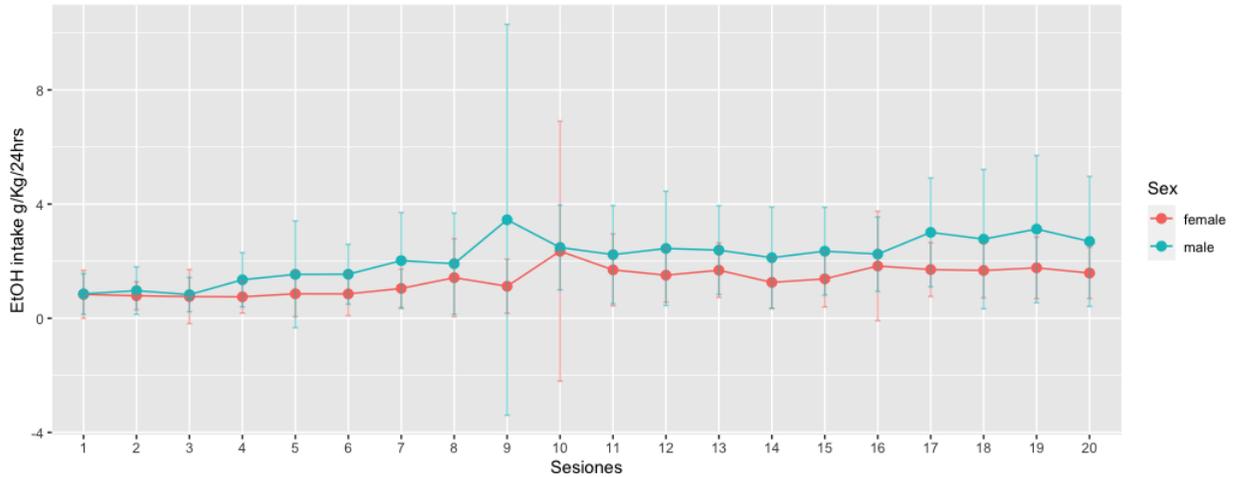


Figura C2. Consumo promedio en gr/Kg/24hr de los sujetos experimentales a lo largo de cada sesión del protocolo IA2BC. Los puntos corresponden a cada sesión con barras de error. No hay diferencias significativas entre grupos. Prueba T de dos muestras ($p > 0.05$)

Adicionalmente, se hizo un análisis para descartar la diferencia del desarrollo con respecto del sexo de las ratas, algo que es consistente con la literatura científica que trata el tema (Carnicella et al., 2014; Simms et al., 2008); es posible ver estos resultados en la gráfica C3 y C4.

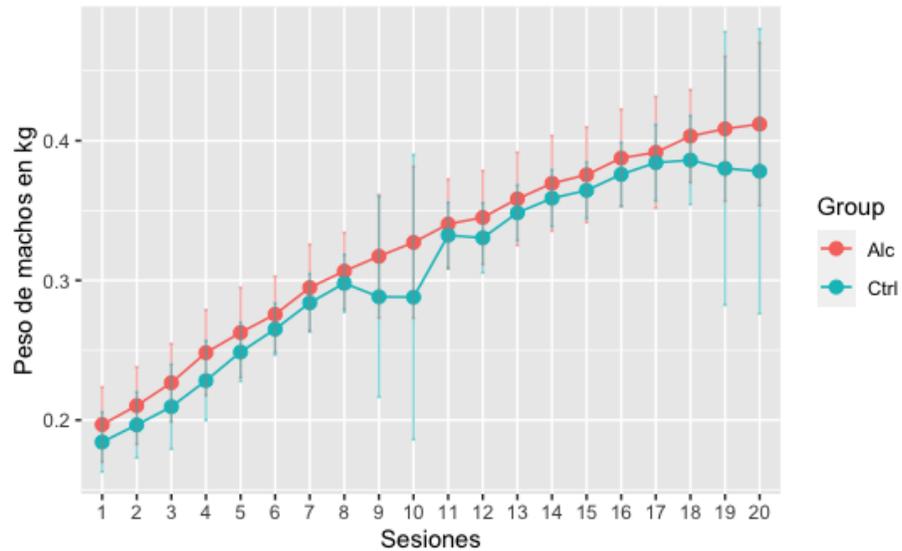


Figura C3. Peso de machos controles contra experimentales. Los puntos corresponden a cada sesión con barras de error. No hay diferencias significativas entre grupos. Prueba T de dos muestras ($p > 0.05$).

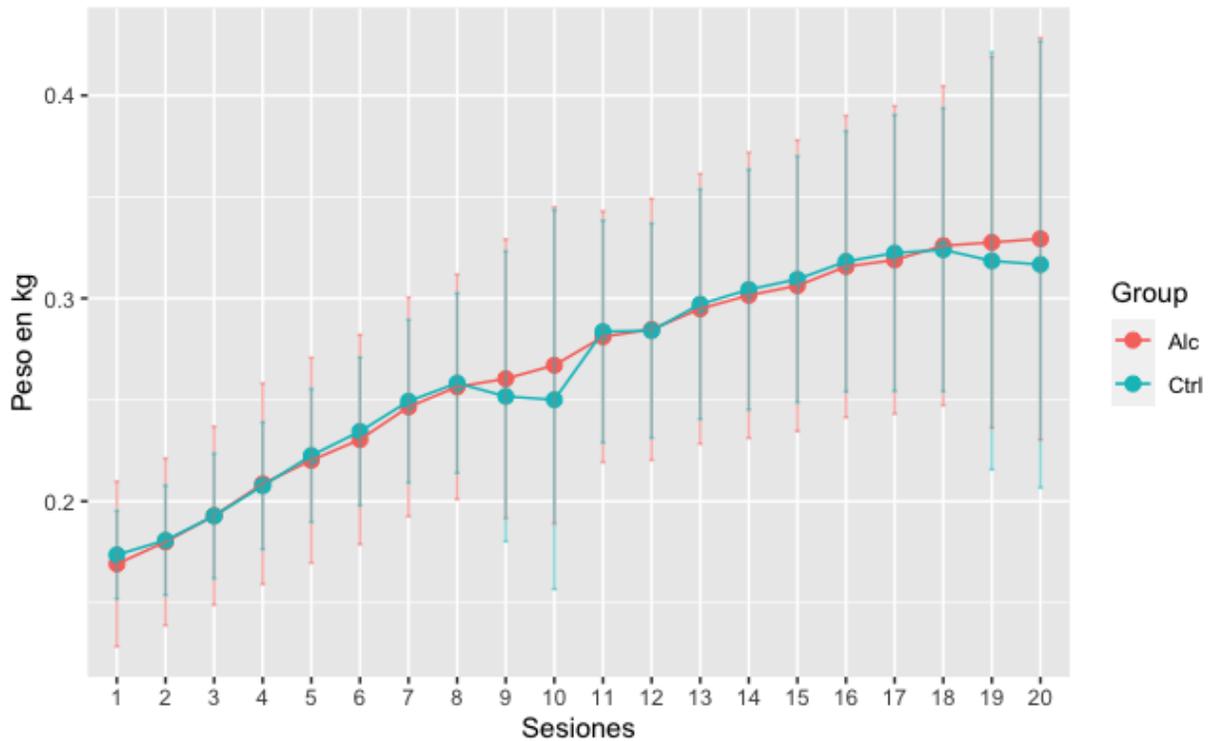


Figura C4. Peso de hembras controles contra experimentales. Los puntos corresponden a cada sesión con barras de error. No hay diferencias significativas entre grupos. Prueba T de dos muestras ($p > 0.05$).

Mediante estas gráficas es posible observar que no existen diferencias en el desarrollo, en términos de peso entre grupos experimentales y controles de ambos sexos. Esto nos permite descartar diferencias asociadas al desarrollo y el sexo derivado del consumo de etanol. Sin embargo, es importante notar que, tal cual es esperado para casi cualquiera mamífero, las ratas hembra son más pequeñas que los machos, desembocando en una diferencia significativa a lo largo del todo el modelo a lo que el tamaño de los sujetos respecta. Esto se observa en las gráficas C5. Sin embargo, es importante notar, que la conectividad funcional no es suficientemente diferente entre grupo para ameritar análisis separados por sexo, especialmente en términos del desorden por consumo de etanol. (Flores-Bonilla et al., 2020; Payne et al., 2021; Radke et al., 2021).

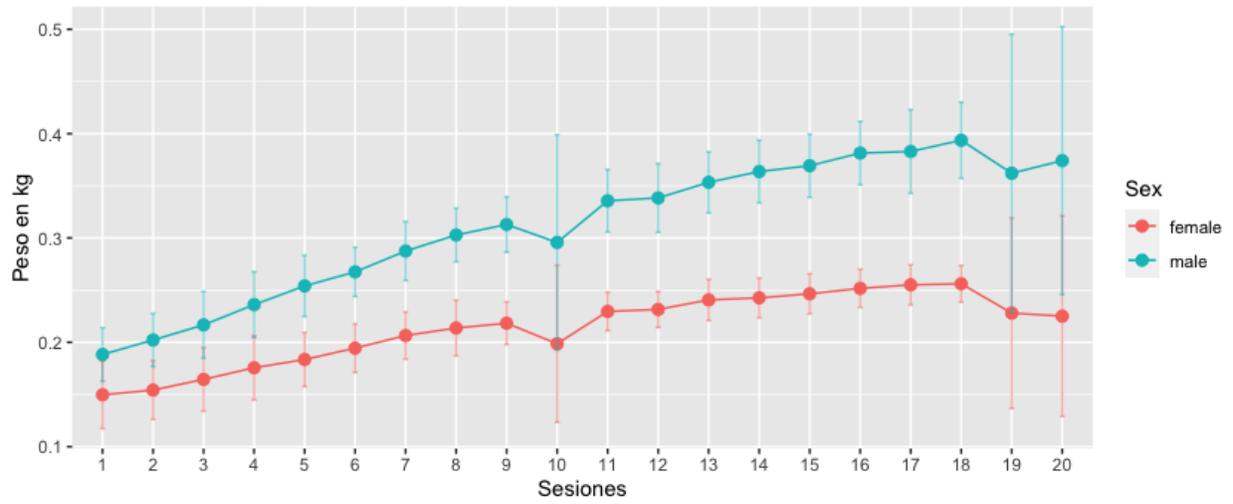


Figura C5. Diferencial de peso graficado por hembras y machos según su sesión. Los puntos corresponden a cada sesión con barras de error. No hay diferencias significativas entre grupos. Prueba T de dos muestras ($p > 0.05$).

Resonancia funcional y redes

Red asociada	Número de voxeles	Región Anatómica	1-p MAX	MAX X	MAX Y	MAX Z	COG X	COG Y	COG Z
Latero-cortical	1241	Corteza somatosensorial	0.973	46	73	40	47.5	69.5	33.5
Modo basal	22	Corteza prefrontal	0.370	42	40	32	42.1	40.6	32
Visual	76	Corteza monocular primaria	0.283	16	50	34	16.3	49.3	34.9
Somatosensorial	123	Corteza somatosensorial de "campo de barriles"	0.894	15	53	34	15.2	53.1	33.6
Saliencia	24	Insula	0.209	26	70	27	25.5	70.3	27.5
Modo basal	34	Corteza retroespinal	0.369	33	69	19	32.6	68.2	18.9
Tálamo mediodorsal	191	Ganglios basales	0.846	16	49	31	15.7	50.9	31.2
Modo Basal	59	Corteza cingulada posterior	0.299	31	62	28	32.1	62.2	27
Asociación	370	Giro dentado	0.962	23	43	26	22.9	41.6	26.6
Cerebelar (putativa)	1347	Capa molecular de Crus I y II	0.951	27	18	25	28.2	18.3	27.1

Tabla D1. Lista de las redes encontradas con base en la descripción de Gozzi et al. junto a una red putativa cerebelar. 1-p MAX, significancia del valor de máxima intensidad en la región; MAX X/Y/Z, ubicación del voxel de mayor intensidad, dadas las coordenadas basadas en el atlas de SIGMA, en milímetros; COG X/Y/Z, ubicación del centro de gravedad en esa región, calculada por un promedio pesado entre los voxeles que conforman la región, en donde la intensidad es la masa.

En la tabla D1, se encuentran las redes que fueron detectadas por el análisis de componentes independientes, se comparan con las redes reportadas por Gozzi et al. (Gutierrez-Barragan et al., 2022) en el ratón y se incluye un valor de significancia derivado de un análisis de umbral. De particular interés son las subredes que aparecieron en el cerebelo y en la corteza sensorial, pues estas muestran cambios significativos entre los sujetos del T1 contra el T3. Eso nos sugiere que, la exposición al etanol desencadenó cambios funcionales de alta importancia en dichas regiones. Además, esto es consistente con la literatura en humanos, en donde la corteza somatosensorial y las regiones cognitivas del cerebelo se ven afectadas durante el trastorno por consumo de etanol. Estas regiones particulares, se pueden observar en la figura D1.

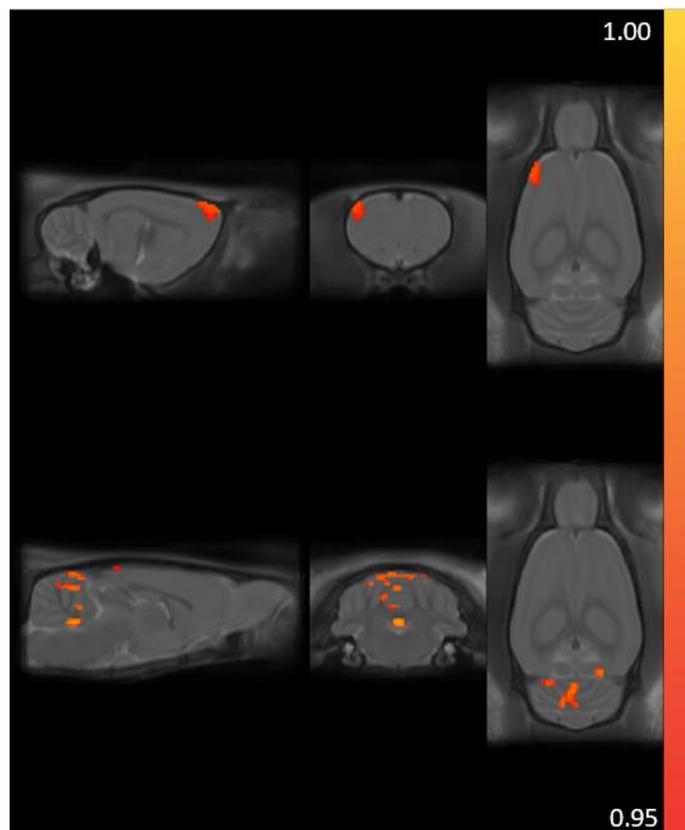


Figura D1. Las dos subregiones con áreas de cambios significativos en la conectividad entre T1 y T3. Se puede observar conectividad en Crus I, Crus II y el Vermis en la red cerebelar y conectividad en la corteza somatosensorial frontal. Umbral de activación de 0.95 a 1 (1-p), equivalente a un valor $p < 0.05$.

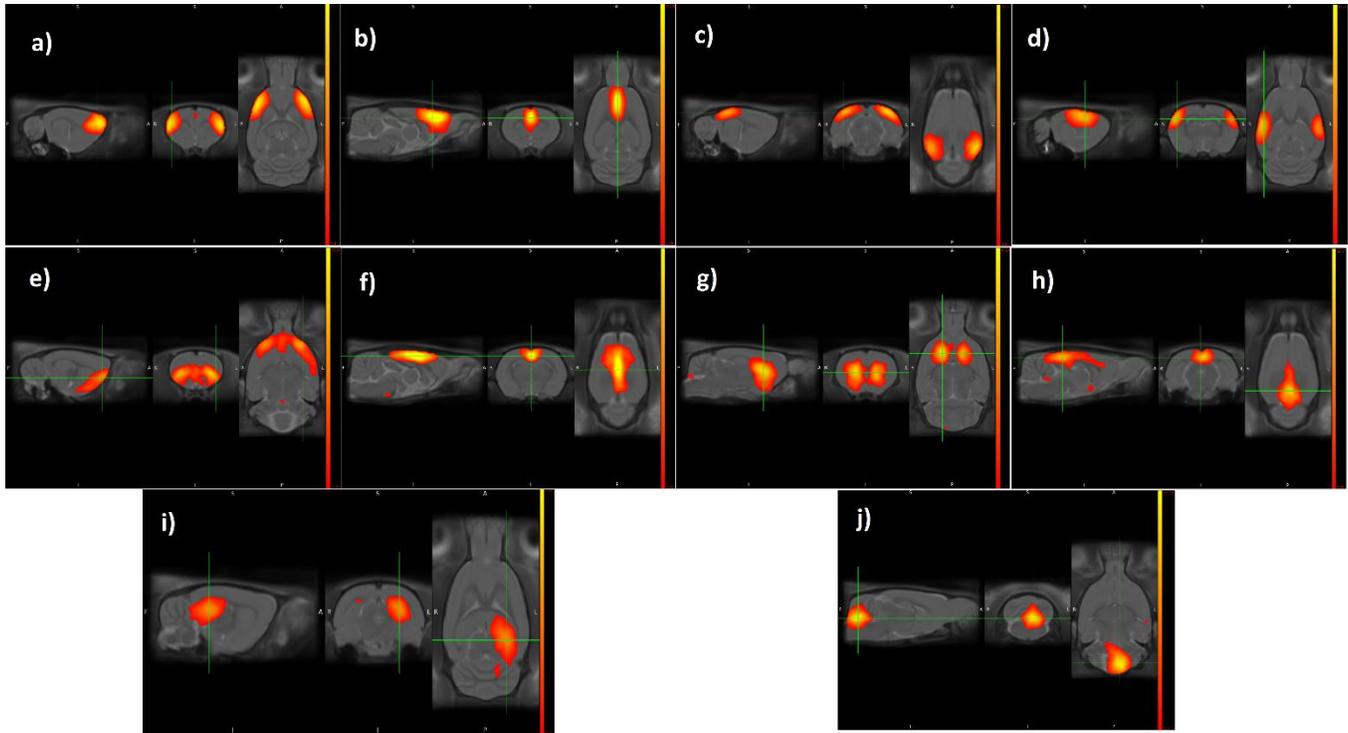


Figura D2. Mapas umbralizados de componentes independientes con cortes sagitales, coronales y axiales de los componentes descritos en la tabla D1. a) corteza somatosensorial frontal; b) corteza prefrontal; c) corteza monocular primaria; d) corteza somatosensorial de “campo de barriles”; e) ínsula; f) corteza retroespinal; g) ganglios basales; h) corteza cingulada posterior; i) giro dentado; j) capa molecular de Crus I y Crus II.

Discusión

El presente trabajo de tesis buscó los cambios en la activación funcional del cerebelo con respecto de otras estructuras en un modelo crónico de ingesta de etanol. Para alcanzar este objetivo se hizo un diseño experimental semejante a un modelo preclínico de consumo de etanol (Bell et al., 2006; Carnicella et al., 2014). En particular, se implementó una línea de ejecución basada en el software novedoso libre RABIES para preprocesar y analizar las imágenes de resonancia magnética funcional. Los resultados arrojados sugieren que el cerebelo está íntimamente involucrado en los desórdenes de consumo, esto a raíz de su capacidad de optimización (Albus, 1971). En particular, Crus I, Crus II y el Vermis tuvieron un incremento significativo en la conectividad, sugiriendo una actividad compensatoria de la conectividad con respecto del control. Por otro lado, otras regiones asociadas a la red de modo basal y la red

somatosensorial también vieron su actividad incrementada, respaldando su importancia durante el consumo crónico de etanol (Suk et al., 2021). Este es el primer estudio en investigar las relaciones funcionales del cerebelo y la red de modo basal en roedores durante el consumo crónico de etanol (Canessa et al., 2021).

Por ejemplo, en caso de las concentraciones de etanol, si la concentración es demasiado baja (menos o igual al 10%) las ratas probablemente no desarrollen el trastorno, mientras que, si la concentración es demasiado alta (mayor al 30%), a las ratas puede resultarles aversiva (Becker-Krail et al., 2016). Por lo anterior y con base en Simms, se seleccionó una concentración de 20% de etanol, por ser la mayor concentración en que los animales desarrollarían un desorden del consumo y no les resulte indigesto. De acuerdo con la literatura, las ratas tienen patrones de consumo semejantes a los humanos en cuanto a edades respecta. Las ratas en la periadolescencia consumen mayores concentraciones de etanol que las adultas, pero las ratas adultas consumen de forma más consistente a largo plazo. En el piloto desarrollado por Alejandra Lopez (pendiente a publicación) también se descubrió que el método más efectivo y consistente de desencadenar desórdenes de consumo por etanol en las ratas era exponerlas al etanol en una edad equivalente a la adultez joven. En particular, a una concentración de 20% de etanol, lo cual derivó a un consumo mayor a los 2gr/kg/mL que es el consumo que se describe constante en las ratas Wistar que muestran características de consumo constante de etanol.

Para poder hacer este análisis de una manera optimizada y repetible, fue necesaria la implementación de un software novedoso denominado RABIES. Este software libre fue recientemente utilizado en una publicación de muy alto impacto, respaldando su validez como herramienta especializada para la resonancia magnética funcional en roedores (Grandjean et al., 2022).

Establecer el modelo de consumo y el método de análisis fue un preámbulo necesario para estudiar las ramificaciones de las condiciones experimentales sobre las distintas regiones del cerebro, especialmente del cerebelo. El cerebelo es una estructura cuya función es la

optimización, por lo que es razonable pensar que, en el desorden de consumo de etanol, esta habilidad para optimizar la conducta se ve impedida. Las áreas del cerebelo que se han demostrado tienen fuerte relevancia en el desorden por consumo de etanol son Crus I, Crus II y el Vermis, esto debido a sus aferencias a corteza somatosensorial, hipotálamo y corteza prefrontal (Jeremy D. Schmahmann, 2019). Crus I y Crus II tienen una relación íntima con la optimización cognitiva, mientras que el Vermis está más relacionado con las capacidades motoras del cerebelo (Ang et al., 2020; Baillieux et al., 2008; Jeremy D. Schmahmann, 2019).

Una hipótesis actual, es que el cerebelo regula por vías dopaminérgicas los “pesos” de conectividad en el resto del encéfalo, lo cual es de especial importancia durante el consumo de etanol, pues este fomenta la liberación de este mismo neurotransmisor, interfiriendo con las capacidades regulatorias del cerebelo (Albus, 1971; Bell et al., 2006; Carta et al., 2019), lo que a su vez, actúa como un modulador del comportamiento social. En particular, parece que la vía cortico-rubro-cerebelar se ve inhibida, lo cual es consistente con hallazgos previos sobre los efectos del etanol en el área ventral tegmental y con aquellos encontrados por este trabajo, en donde el cerebelo tiene que aumentar su actividad en un rol que probablemente sea compensatorio. Durante el análisis por componentes independientes surgieron una gran variedad de redes, sin embargo, solo una red cerebelar y una red somatosensorial asociada a la red de modo basal tuvieron cambios significativos entre T1 y T3 (Figura D1) al ser analizadas controlando por múltiples comparaciones. En particular, estos cambios se vieron en las regiones de Crus I y II y el Vermis en el Cerebelo y sobre la corteza somatosensorial frontal. Esta evidencia es de particular relevancia porque une la parte regulatoria emocional del cerebelo, en la red de modo basal, en conjunto de la regulación mecánica en la afectación en la red sensoriomotora. Otro detalle interesante, es la afectación asimétrica sobre la red somatosensorial y, aunque no es obvio el porqué de esto, parece indicar que existe un rol diferencial en la regulación mecano-cognitiva en los roedores, lo cual podría ser derivado de la elección de mano dominante o de otro factor no aquí considerado.

Aunado a esto, los cambios sobre la red de modo basal indican que la habilidad de mediación de actividades voluntarias se ve afectada, siendo esto consistente con el cuadro etiológico del desorden por consumo de etanol, en donde el sujeto pierde la habilidad de

moderar su consumo (Canessa et al., 2021). Es importante tomar en cuenta que se trata de un modelo animal, por lo que cualquier derivado conductual, sobre todo uno que roza con la abstracción, debe ser considerado con cuidado, pero estas afectaciones, en conjunto de los resultados derivados del consumo, sugieren que este mecanismo compensatorio podría existir en humanos también.

Dentro de estos resultados, es importante resaltar la aparición de una red de conectividad cerebelar novedosa en roedores y que es consistente con aquellas encontradas en humanos (Bostan et al., 2013; Habas, 2021; Jeremy D. Schmahmann, 2019). Esto es de especial importancia, pues sugiere que los mecanismos regulatorios del cerebelo son semejantes en humanos y en roedores, lo cual tiene sentido desde un aspecto evolutivo y matemático. Evolutivo porque la filogenia del cerebelo lo establece como una de las estructuras que menos adaptaciones ha adquirido a través de las especies, lo cual sugiere que es una región de alta importancia y difícil de modificar, probablemente a raíz de su baja modularidad (Tsai et al., 2020). Y matemático porque también indicaría que las ecuaciones ya existentes de Albus y Marr (Albus, 1971) son una abstracción acertada para describir el comportamiento de optimización en el cerebelo, al menos en términos puramente conceptuales. Por último, es importante notar que hay evidencia de que, además de ser semejantes en términos de estructura, el cerebelo humano y el de las ratas también comparten afinidades y referencias a zonas equivalentes (Bostan et al., 2013).

La aparición de esta red, dadas las condiciones experimentales, también nos permite comenzar a complementar el modelo de consumo de Volkow, basado en el de 3 etapas, en donde el cerebelo “optimiza” y facilita la transición en estados derivados del detonante de la anticipación. Esto provoca que el subsecuente atracón tenga que reclutar menos regiones cerebrales para tomar la decisión de consumir el etanol, volviéndolo una cascada de retroalimentación positiva que vuelve especialmente difícil escapar del desorden del consumo. Esto se respalda de la literatura, pues, en experimentos con ratas; su habilidad de toma de decisiones se ve impedida de manera crónica por el consumo de etanol, sugiriendo que el cerebro tiene que reclutar otras redes, obligándolo a usar vías no optimizadas (Alcaraz et al., 2018; Canessa et al., 2021; Z. Wang et al., 2017).

El presente trabajo es uno de los componentes de uno mayor, donde se estudió por primera vez la interacción de una red cerebelar putativa con otras redes durante ratas expuestas a un modelo preclínico de consumo de etanol. Partiendo de las preguntas de investigación sobre las que se basaron este proyecto, es evidente que el cerebelo interactúa con la red de modo basal y otras más. El mecanismo del cómo ocurre esta interacción sigue sin ser evidente, en especial por el rol regulatorio del cerebelo, por lo que su magnitud de conectividad probablemente sea considerablemente menor. Otro punto de interés fue el descubrimiento de una red cerebelar en roedores, misma que se vio afectada en el tratamiento experimental, apoyando la idea de que esta red se ve involucrada en la compensación durante el consumo crónico de etanol.

Estos resultados son altamente interesantes debido a que el cerebelo no ha sido un enfoque de estudio aún y mucho menos en roedores, por lo que encontrar redes putativas de este nos provee de una visión más amplia y más completa de la función del cerebro durante el desorden por consumo de etanol.

Por último, la implementación del software RABIES es de suma importancia, pues ayudará a la estandarización de las vías de ejecución cuando se trate de análisis funcional de roedores, rompiendo con el esoterismo en lo que a análisis computacional refiere, representando un gran paso para la neuroimagen en el Instituto de Neurobiología y México.

Alcances y limitaciones

Los estudios basados en el cerebelo, especialmente en términos de sus capacidades en la regulación cognitiva siguen siendo relativamente escasos, por lo que probablemente aún no exista un panorama completo del mismo, especialmente en modelos basados en roedores. El presente trabajo es solo una fracción de un trabajo mucho más grande que incluye análisis por deformaciones, inmunología, difusión y conducta, por lo que sería imposible derivar, en buena fe, conclusiones definitivas de solo una de estas partes. Sin embargo, en el trabajo completo,

se tendrá un enfoque multidimensional que definitivamente podrá llegar a nuevas alturas en el estudio del desorden por consumo de etanol en modelos murinos.

La limitante principal de este trabajo es el tamaño fue el tamaño de la muestra, lo cual vuelve más difícil el análisis estadístico, sin embargo, este estudio es de alto valor, pues nos provee de una ventana a lo que podría estar sucediendo en la realidad. Además, nos ayuda a determinar futuras acciones y futuros análisis que pudieron no ser evidentes previos a este trabajo.

Conclusión

En conclusión, el consumo crónico de etanol en ratas Wistar produce cambios en la activación funcional del cerebelo y en la red de modo basal, sugiriendo una relación importante entre ambos. Se observaron cambios significativos en por imagen de resonancia magnética funcional en los lóbulos posteriores del cerebelo en ratas con consumo crónico de etanol.

Estos hallazgos tienen implicaciones en la comprensión de los mecanismos subyacentes al desorden por consumo de etanol y resaltan la relevancia del cerebelo como una estructura involucrada en la regulación del comportamiento durante el consumo crónico de etanol en ratas Wistar.

Referencias

- Albus, J. S. (1971). A theory of cerebellar function. *Mathematical Biosciences*, 10(1), 25-61. doi:[https://doi.org/10.1016/0025-5564\(71\)90051-4](https://doi.org/10.1016/0025-5564(71)90051-4)
- Allen, G., McColl, R., Barnard, H., Ringe, W. K., Fleckenstein, J., & Cullum, C. M. (2005). Magnetic resonance imaging of cerebellar–prefrontal and cerebellar–parietal functional connectivity. *Neuroimage*, 28(1), 39-48. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2005.06.013>
- Andersen, S. N., & Skullerud, K. (1999). Hypoxic/ischaemic brain damage, especially pallidal lesions, in heroin addicts. *Forensic Sci Int*, 102(1), 51-59. doi:10.1016/s0379-0738(99)00040-7
- Ang, C., Zhang, J., Chu, M., Li, H., Tian, M., Feng, X., Zhang, M., Liu, L., Meng, X., & Ding, G. (2020). Intrinsic Cerebro-Cerebellar Functional Connectivity Reveals the Function of Cerebellum VI in Reading-Related Skills. *Frontiers in Psychology*, 11(420). doi:10.3389/fpsyg.2020.00420
- Arlington, V. (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders. *American Psychiatric Association*.
- Ashizawa, T., & Xia, G. (2016). Ataxia. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 22(4 Movement Disorders), 1208-1226. doi:10.1212/CON.0000000000000362
- Bahi, A., & Dreyer, J. L. (2014). Chronic psychosocial stress causes delayed extinction and exacerbates reinstatement of ethanol-induced conditioned place preference in mice. *Psychopharmacology (Berl)*, 231(2), 367-377. doi:10.1007/s00213-013-3243-1
- Baillieux, H., De Smet, H. J., Paquier, P. F., De Deyn, P. P., & Mariën, P. (2008). Cerebellar neurocognition: insights into the bottom of the brain. *Clin Neurol Neurosurg*, 110(8), 763-773. doi:10.1016/j.clineuro.2008.05.013
- Balsters, J. H., Cussans, E., Diedrichsen, J., Phillips, K. A., Preuss, T. M., Rilling, J. K., & Ramnani, N. (2010). Evolution of the cerebellar cortex: the selective expansion of prefrontal-projecting cerebellar lobules. *Neuroimage*, 49(3), 2045-2052. doi:10.1016/j.neuroimage.2009.10.045
- Bernard, J., Seidler, R., Hassevoort, K., Benson, B., Welsh, R., Wiggins, J., Jaeggi, S., Buschkuhl, M., Monk, C., Jonides, J., & Peltier, S. (2012). Resting state cortico-cerebellar functional connectivity networks: a comparison of anatomical and self-organizing map approaches. *Frontiers in Neuroanatomy*, 6(31). doi:10.3389/fnana.2012.00031
- Bespalov, A., Steckler, T., Altevogt, B., Koustova, E., Skolnick, P., Deaver, D., Millan, M. J., Bastlund, J. F., Doller, D., Witkin, J., Moser, P., O'Donnell, P., Ebert, U., Geyer, M. A., Prinssen, E.,

- Ballard, T., & Macleod, M. (2016). Failed trials for central nervous system disorders do not necessarily invalidate preclinical models and drug targets. *Nat Rev Drug Discov*, *15*(7), 516. doi:10.1038/nrd.2016.88
- Blomfield, S., & Marr, D. (1970). How the cerebellum may be used. *Nature*, *227*(5264), 1224-1228. doi:10.1038/2271224a0
- Boleda, M. D., Julià, P., Moreno, A., Saubi, N., & Parés, X. (1991). The Alcohol Dehydrogenase System in the Rat: Comparison with the Human Enzyme. In T. N. Palmer (Ed.), *Alcoholism: A Molecular Perspective* (pp. 107-114). Boston, MA: Springer US.
- Bostan, A. C., Dum, R. P., & Strick, P. L. (2010). The basal ganglia communicate with the cerebellum. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *107*(18), 8452-8456. doi:10.1073/pnas.1000496107
- Bostan, A. C., & Strick, P. L. (2010). The Cerebellum and Basal Ganglia are Interconnected. *Neuropsychology Review*, *20*(3), 261-270. doi:10.1007/s11065-010-9143-9
- Buckner, R. L., Krienen, F. M., Castellanos, A., Diaz, J. C., & Yeo, B. T. (2011). The organization of the human cerebellum estimated by intrinsic functional connectivity. *J Neurophysiol*, *106*(5), 2322-2345. doi:10.1152/jn.00339.2011
- Caligiore, D., Pezzulo, G., Baldassarre, G., Bostan, A. C., Strick, P. L., Doya, K., Helmich, R. C., Dirkx, M., Houk, J., Jörntell, H., Lago-Rodriguez, A., Galea, J. M., Miall, R. C., Popa, T., Kishore, A., Verschure, P. F., Zucca, R., & Herrerros, I. (2017). Consensus Paper: Towards a Systems-Level View of Cerebellar Function: the Interplay Between Cerebellum, Basal Ganglia, and Cortex. *Cerebellum (London, England)*, *16*(1), 203-229. doi:10.1007/s12311-016-0763-3
- Canessa, N., Basso, G., Carne, I., Poggi, P., & Gianelli, C. (2021). Increased decision latency in alcohol use disorder reflects altered resting-state synchrony in the anterior salience network. *Scientific Reports*, *11*(1), 19581. doi:10.1038/s41598-021-99211-1
- Carlson, B. X., Belhage, B., Hansen, G. H., Elster, L., Olsen, R. W., & Schousboe, A. (1997). Expression of the GABA(A) receptor alpha6 subunit in cultured cerebellar granule cells is developmentally regulated by activation of GABA(A) receptors. *J Neurosci Res*, *50*(6), 1053-1062. doi:10.1002/(sici)1097-4547(19971215)50:6<1053::Aid-jnr17>3.0.Co;2-5
- Carta, I., Chen, C. H., Schott, A. L., Dorizan, S., & Khodakhah, K. (2019). Cerebellar modulation of the reward circuitry and social behavior. *Science*, *363*(6424). doi:10.1126/science.aav0581
- Chanraud, S., Martelli, C., Delain, F., Kostogianni, N., Douaud, G., Aubin, H. J., Reynaud, M., & Martinot, J. L. (2007). Brain morphometry and cognitive performance in detoxified alcohol-

- dependents with preserved psychosocial functioning. *Neuropsychopharmacology*, 32(2), 429-438. doi:10.1038/sj.npp.1301219
- Chanraud, S., Pitel, A. L., Rohlfing, T., Pfefferbaum, A., & Sullivan, E. V. (2010). Dual tasking and working memory in alcoholism: relation to frontocerebellar circuitry. *Neuropsychopharmacology*, 35(9), 1868-1878. doi:10.1038/npp.2010.56
- Collaborators, G. B. D. A. (2018). Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet (London, England)*, 392(10152), 1015-1035. doi:10.1016/S0140-6736(18)31310-2
- Courchesne, E., Hesslink, J. R., Jernigan, T. L., & Yeung-Courchesne, R. (1987). Abnormal neuroanatomy in a nonretarded person with autism. Unusual findings with magnetic resonance imaging. *Arch Neurol*, 44(3), 335-341. doi:10.1001/archneur.1987.00520150073028
- Courchesne, E., Yeung-Courchesne, R., Press, G. A., Hesslink, J. R., & Jernigan, T. L. (1988). Hypoplasia of cerebellar vermal lobules VI and VII in autism. *N Engl J Med*, 318(21), 1349-1354. doi:10.1056/nejm198805263182102
- D'Angelo, E., & Casali, S. (2012). Seeking a unified framework for cerebellar function and dysfunction: from circuit operations to cognition. *Front Neural Circuits*, 6, 116. doi:10.3389/fncir.2012.00116
- D'Mello, A., & Stoodley, C. (2015). Cerebro-cerebellar circuits in autism spectrum disorder. *Frontiers in Neuroscience*, 9. doi:10.3389/fnins.2015.00408
- D'Angelo, E., Antonietti, A., Casali, S., Casellato, C., Garrido, J. A., Luque, N. R., Mapelli, L., Masoli, S., Pedrocchi, A., Prestori, F., Rizza, M. F., & Ros, E. (2016). Modeling the Cerebellar Microcircuit: New Strategies for a Long-Standing Issue. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 10(176). doi:10.3389/fncel.2016.00176
- Dave, S., VanHaerents, S., & Voss, J. L. (2020). Cerebellar Theta and Beta Noninvasive Stimulation Rhythms Differentially Influence Episodic Memory versus Semantic Prediction. *The Journal of Neuroscience*, 40(38), 7300-7310. doi:10.1523/jneurosci.0595-20.2020
- De Bellis, M. D., Narasimhan, A., Thatcher, D. L., Keshavan, M. S., Soloff, P., & Clark, D. B. (2005). Prefrontal cortex, thalamus, and cerebellar volumes in adolescents and young adults with adolescent-onset alcohol use disorders and comorbid mental disorders. *Alcohol Clin Exp Res*, 29(9), 1590-1600. doi:10.1097/01.alc.0000179368.87886.76
- De Vidovich, G. Z., Muffatti, R., Monaco, J., Caramia, N., Broglia, D., Caverzasi, E., Barale, F., & D'Angelo, E. (2016). Repetitive TMS on Left Cerebellum Affects Impulsivity in Borderline

- Personality Disorder: A Pilot Study. *Frontiers in human neuroscience*, 10, 582-582. doi:10.3389/fnhum.2016.00582
- Diamond, A. (2000). Close interrelation of motor development and cognitive development and of the cerebellum and prefrontal cortex. *Child Dev*, 71(1), 44-56. doi:10.1111/1467-8624.00117
- Dum, R. P., & Strick, P. L. (2003). An Unfolded Map of the Cerebellar Dentate Nucleus and its Projections to the Cerebral Cortex. *Journal of Neurophysiology*, 89(1), 634-639. doi:10.1152/jn.00626.2002
- Ersche, K. D., Meng, C., Ziauddeen, H., Stochl, J., Williams, G. B., Bullmore, E. T., & Robbins, T. W. (2020). Brain networks underlying vulnerability and resilience to drug addiction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(26), 15253-15261. doi:10.1073/pnas.2002509117
- Ewin, S. E., Morgan, J. W., Niere, F., McMullen, N. P., Barth, S. H., Almonte, A. G., Raab-Graham, K. F., & Weiner, J. L. (2019). Chronic Intermittent Ethanol Exposure Selectively Increases Synaptic Excitability in the Ventral Domain of the Rat Hippocampus. *Neuroscience*, 398, 144-157. doi:10.1016/j.neuroscience.2018.11.028
- Fu, R., Gregor, D., Peng, Z., Li, J., Bekker, A., & Ye, J. (2015). Chronic intermittent voluntary alcohol drinking induces hyperalgesia in Sprague-Dawley rats. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*, 7(3), 136-144. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26823962>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4697669/>
- Gilpin, N. W., Richardson, H. N., Cole, M., & Koob, G. F. (2008). Vapor inhalation of alcohol in rats. *Current protocols in neuroscience, Chapter 9*, Unit-9.29. doi:10.1002/0471142301.ns0929s44
- Grandjean, J., Canella, C., Anckaerts, C., Ayranci, G., Bougacha, S., Bienert, T., Buehlmann, D., Coletta, L., Gallino, D., Gass, N., Garin, C. M., Nadkarni, N. A., Hübner, N. S., Karatas, M., Komaki, Y., Kreitz, S., Mandino, F., Mechling, A. E., Sato, C., Sauer, K., Shah, D., Strobel, S., Takata, N., Wank, I., Wu, T., Yahata, N., Yeow, L. Y., Yee, Y., Aoki, I., Chakravarty, M. M., Chang, W.-T., Dhenain, M., von Elverfeldt, D., Harsan, L.-A., Hess, A., Jiang, T., Keliris, G. A., Lerch, J. P., Meyer-Lindenberg, A., Okano, H., Rudin, M., Sartorius, A., Van der Linden, A., Verhoye, M., Weber-Fahr, W., Wenderoth, N., Zerbi, V., & Gozzi, A. (2020). Common functional networks in the mouse brain revealed by multi-centre resting-state fMRI analysis. *Neuroimage*, 205, 116278. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.116278>

- Grandjean, J., Zerbi, V., Balsters, J. H., Wenderoth, N., & Rudin, M. (2017). Structural Basis of Large-Scale Functional Connectivity in the Mouse. *The Journal of Neuroscience*, *37*(34), 8092-8101. doi:10.1523/jneurosci.0438-17.2017
- Greger, B., & Norris, S. (2005). Simple spike firing in the posterior lateral cerebellar cortex of Macaque Mulatta was correlated with success-failure during a visually guided reaching task. *Exp Brain Res*, *167*(4), 660-665. doi:10.1007/s00221-005-0155-2
- Habas, C. (2021). Functional Connectivity of the Cognitive Cerebellum. *Frontiers in systems neuroscience*, *15*(27). doi:10.3389/fnsys.2021.642225
- Habas, C., Kamdar, N., Nguyen, D., Prater, K., Beckmann, C. F., Menon, V., & Greicius, M. D. (2009). Distinct cerebellar contributions to intrinsic connectivity networks. *J Neurosci*, *29*(26), 8586-8594. doi:10.1523/jneurosci.1868-09.2009
- Habas, C., Kamdar, N., Nguyen, D., Prater, K., Beckmann, C. F., Menon, V., & Greicius, M. D. (2009). Distinct Cerebellar Contributions to Intrinsic Connectivity Networks. *The Journal of Neuroscience*, *29*(26), 8586-8594. doi:10.1523/jneurosci.1868-09.2009
- Haber, S. N., & Knutson, B. (2010). The reward circuit: linking primate anatomy and human imaging. *Neuropsychopharmacology*, *35*(1), 4-26. doi:10.1038/npp.2009.129
- Halko, M. A., Farzan, F., Eldaief, M. C., Schmahmann, J. D., & Pascual-Leone, A. (2014). Intermittent theta-burst stimulation of the lateral cerebellum increases functional connectivity of the default network. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *34*(36), 12049-12056. doi:10.1523/JNEUROSCI.1776-14.2014
- Huang, Y., Mohan, A., De Ridder, D., Sunaert, S., & Vanneste, S. (2018). The neural correlates of the unified percept of alcohol-related craving: a fMRI and EEG study. *Scientific Reports*, *8*(1), 923. doi:10.1038/s41598-017-18471-y
- Ito, M. (2006). Cerebellar circuitry as a neuronal machine. *Prog Neurobiol*, *78*(3-5), 272-303. doi:10.1016/j.pneurobio.2006.02.006
- Jadhav, K. S., Magistretti, P. J., Halfon, O., Augsburg, M., & Boutrel, B. (2017). A preclinical model for identifying rats at risk of alcohol use disorder. *Scientific Reports*, *7*(1), 9454. doi:10.1038/s41598-017-09801-1
- Jesse, S., Bräthen, G., Ferrara, M., Keindl, M., Ben-Menachem, E., Tanasescu, R., Brodtkorb, E., Hillbom, M., Leone, M. A., & Ludolph, A. C. (2017). Alcohol withdrawal syndrome: mechanisms, manifestations, and management. *Acta neurologica Scandinavica*, *135*(1), 4-16. doi:10.1111/ane.12671

- Kaja, S., Payne, A. J., Nielsen, E., Thompson, C. L., van den Maagdenberg, A. M., Koulen, P., & Snutch, T. P. (2015). Differential cerebellar GABAA receptor expression in mice with mutations in CaV2.1 (P/Q-type) calcium channels. *Neuroscience*, *304*, 198-208. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.07.044
- Kamali, A., Kramer, L. A., Frye, R. E., Butler, I. J., & Hasan, K. M. (2010). Diffusion tensor tractography of the human brain cortico-ponto-cerebellar pathways: a quantitative preliminary study. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, *32*(4), 809-817. doi:10.1002/jmri.22330
- Kamigaki, T. (2018). Prefrontal circuit organization for executive control. *Neuroscience Research*, *140*. doi:10.1016/j.neures.2018.08.017
- Kelly, R. M., & Strick, P. L. (2003). Cerebellar Loops with Motor Cortex and Prefrontal Cortex of a Nonhuman Primate. *The Journal of Neuroscience*, *23*(23), 8432-8444. doi:10.1523/jneurosci.23-23-08432.2003
- Koob, G. F. (2013). Theoretical frameworks and mechanistic aspects of alcohol addiction: alcohol addiction as a reward deficit disorder. *Curr Top Behav Neurosci*, *13*, 3-30. doi:10.1007/7854_2011_129
- Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of Addiction. *Neuropsychopharmacology*, *35*(1), 217-238. doi:10.1038/npp.2009.110
- Koziol, L. F., Budding, D., Andreasen, N., D'Arrigo, S., Bulgheroni, S., Imamizu, H., Ito, M., Manto, M., Marvel, C., Parker, K., Pezzulo, G., Ramnani, N., Riva, D., Schmahmann, J., Vandervert, L., & Yamazaki, T. (2014). Consensus paper: the cerebellum's role in movement and cognition. *Cerebellum (London, England)*, *13*(1), 151-177. doi:10.1007/s12311-013-0511-x
- Krienen, F. M., & Buckner, R. L. (2009). Segregated Fronto-Cerebellar Circuits Revealed by Intrinsic Functional Connectivity. *Cerebral Cortex*, *19*(10), 2485-2497. doi:10.1093/cercor/bhp135
- Kühn, S., Romanowski, A., Schilling, C., Mobascher, A., Warbrick, T., Winterer, G., & Gallinat, J. (2012). Brain grey matter deficits in smokers: focus on the cerebellum. *Brain Struct Funct*, *217*(2), 517-522. doi:10.1007/s00429-011-0346-5
- Labrada-Moncada, F. E., Martínez-Torres, A., & Reyes-Haro, D. (2020). GABA(A) Receptors are Selectively Expressed in NG2 Glia of the Cerebellar White Matter. *Neuroscience*, *433*, 132-143. doi:10.1016/j.neuroscience.2020.03.003
- Lee, Ka H., Mathews, Paul J., Reeves, Alexander M. B., Choe, Katrina Y., Jami, Shekib A., Serrano, Raul E., & Otis, Thomas S. (2015). Circuit Mechanisms Underlying Motor Memory

- Formation in the Cerebellum. *Neuron*, 86(2), 529-540.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.03.010>
- Lewis, M. M., Galley, S., Johnson, S., Stevenson, J., Huang, X., & McKeown, M. J. (2013). The role of the cerebellum in the pathophysiology of Parkinson's disease. *Can J Neurol Sci*, 40(3), 299-306. doi:10.1017/s0317167100014232
- Marr, D. (1969). A theory of cerebellar cortex. *J Physiol*, 202(2), 437-470. doi:10.1113/jphysiol.1969.sp008820
- Medina, J. F., & Lisberger, S. G. (2008). Links from complex spikes to local plasticity and motor learning in the cerebellum of awake-behaving monkeys. *Nat Neurosci*, 11(10), 1185-1192. doi:10.1038/nn.2197
- Miquel, M., Toledo, R., García, L. I., Coria-Avila, G. A., & Manzo, J. (2009). Why should we keep the cerebellum in mind when thinking about addiction? *Curr Drug Abuse Rev*, 2(1), 26-40. doi:10.2174/1874473710902010026
- Moulton, E. A., Elman, I., Becerra, L. R., Goldstein, R. Z., & Borsook, D. (2014). The cerebellum and addiction: insights gained from neuroimaging research. *Addiction biology*, 19(3), 317-331. doi:10.1111/adb.12101
- Mouraux, A., Diukova, A., Lee, M. C., Wise, R. G., & Iannetti, G. D. (2011). A multisensory investigation of the functional significance of the "pain matrix". *Neuroimage*, 54(3), 2237-2249. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.09.084
- O'Reilly, J. X., Beckmann, C. F., Tomassini, V., Ramnani, N., & Johansen-Berg, H. (2009). Distinct and Overlapping Functional Zones in the Cerebellum Defined by Resting State Functional Connectivity. *Cerebral Cortex*, 20(4), 953-965. doi:10.1093/cercor/bhp157
- Payne, M., Mali, I., McKinnell, Z. E., Vangsness, L., Shrestha, T. B., Bossmann, S. H., & Plakke, B. (2021). Increased volumes of lobule VI in a valproic acid model of autism are associated with worse set-shifting performance in male Long-Evan rats. *Brain Research*, 1765, 147495. doi:<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147495>
- Phillips, S. C., Harper, C. G., & Kril, J. (1987). A quantitative histological study of the cerebellar vermis in alcoholic patients. *Brain*, 110 (Pt 2), 301-314. doi:10.1093/brain/110.2.301
- Pickersgill, M. D. (2014). Debating DSM-5: diagnosis and the sociology of critique. *Journal of medical ethics*, 40(8), 521-525. doi:10.1136/medethics-2013-101762
- Pull, C. B. (1995). [DSM-IV]. *Encephale*, 21 Spec No 5, 15-20.

- Ramnani, N. (2006). The primate cortico-cerebellar system: anatomy and function. *Nat Rev Neurosci*, 7(7), 511-522. doi:10.1038/nrn1953
- Reeber, S. L., Otis, T. S., & Sillitoe, R. V. (2013). New roles for the cerebellum in health and disease. *Frontiers in systems neuroscience*, 7, 83-83. doi:10.3389/fnsys.2013.00083
- Sang, L., Qin, W., Liu, Y., Han, W., Zhang, Y., Jiang, T., & Yu, C. (2012). Resting-state functional connectivity of the vermal and hemispheric subregions of the cerebellum with both the cerebral cortical networks and subcortical structures. *Neuroimage*, 61(4), 1213-1225. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.04.011
- Schmahmann, J. (1997). *The Cerebellum and Cognition* (Vol. 41). London: Academic Press.
- Schmahmann, J. D. (2019). The cerebellum and cognition. *Neuroscience Letters*, 688, 62-75. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.07.005>
- Schmahmann, J. D., Rosene, D. L., & Pandya, D. N. (2004). Motor projections to the basis pontis in rhesus monkey. *J Comp Neurol*, 478(3), 248-268. doi:10.1002/cne.20286
- Seamans, J. K., Laphish, C. C., & Durstewitz, D. (2008). Comparing the prefrontal cortex of rats and primates: insights from electrophysiology. *Neurotox Res*, 14(2-3), 249-262. doi:10.1007/bf03033814
- Sharma, A. C., & Kulkarni, S. K. (1992). Evaluation of learning and memory mechanisms employing elevated plus-maze in rats and mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 16(1), 117-125. doi:[https://doi.org/10.1016/0278-5846\(92\)90014-6](https://doi.org/10.1016/0278-5846(92)90014-6)
- Sheu, Y. S., & Desmond, J. E. (2021). Cerebro-Cerebellar Response to Sequence Violation in a Cognitive Task: an fMRI Study. *Cerebellum (London, England)*. doi:10.1007/s12311-021-01279-y
- Shiffrin, R. M., & Schneider, W. (1984). Automatic and controlled processing revisited. *Psychol Rev*, 91(2), 269-276.
- Sim, M. E., Lyoo, I. K., Streeter, C. C., Covell, J., Sarid-Segal, O., Ciraulo, D. A., Kim, M. J., Kaufman, M. J., Yurgelun-Todd, D. A., & Renshaw, P. F. (2007). Cerebellar gray matter volume correlates with duration of cocaine use in cocaine-dependent subjects. *Neuropsychopharmacology*, 32(10), 2229-2237. doi:10.1038/sj.npp.1301346
- Simms, J. A., Steensland, P., Medina, B., Abernathy, K. E., Chandler, L. J., Wise, R., & 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. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00753.x>

- Spanagel, R. (2017). Animal models of addiction. *Dialogues in clinical neuroscience*, 19(3), 247-258. doi:10.31887/DCNS.2017.19.3/rspanagel
- Srivastava, P. (2015). The cerebellum: Learning movement, language, and social skills. *The Indian Journal of Medical Research*, 141(6), 847-848. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4525418/>
- Stoodley, C. J., & Schmahmann, J. D. (2009). Functional topography in the human cerebellum: A meta-analysis of neuroimaging studies. *Neuroimage*, 44(2), 489-501. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.08.039>
- Stoodley, C. J., Valera, E. M., & Schmahmann, J. D. (2012). Functional topography of the cerebellum for motor and cognitive tasks: An fMRI study. *Neuroimage*, 59(2), 1560-1570. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.08.065>
- Suckling, J., & Nestor, L. J. (2017). The neurobiology of addiction: the perspective from magnetic resonance imaging present and future. *Addiction (Abingdon, England)*, 112(2), 360-369. doi:10.1111/add.13474
- Sugihara, I. (2018). Crus I in the Rodent Cerebellum: Its Homology to Crus I and II in the Primate Cerebellum and Its Anatomical Uniqueness Among Neighboring Lobules. *Cerebellum (London, England)*, 17(1), 49-55. doi:10.1007/s12311-017-0911-4
- Sullivan, E. V., Rohlfing, T., & Pfefferbaum, A. (2010). Pontocerebellar volume deficits and ataxia in alcoholic men and women: no evidence for "telescoping". *Psychopharmacology (Berl)*, 208(2), 279-290. doi:10.1007/s00213-009-1729-7
- Sullivan, R. J., & Hagen, E. H. (2002). Psychotropic substance-seeking: evolutionary pathology or adaptation? *Addiction (Abingdon, England)*, 97(4), 389-400. doi:10.1046/j.1360-0443.2002.00024.x
- Sutherland, M. T., McHugh, M. J., Pariyadath, V., & Stein, E. A. (2012). Resting state functional connectivity in addiction: Lessons learned and a road ahead. *Neuroimage*, 62(4), 2281-2295. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.01.117
- Taylor, S., Lewis, C., & Olive, M. F. (2013). The neurocircuitry of illicit psychostimulant addiction: acute and chronic effects in humans. *Substance abuse and rehabilitation*, 4, 29-43. doi:10.2147/SAR.S39684
- Tewari, A., Fremont, R., & Khodakhah, K. (2017). It's not just the basal ganglia: Cerebellum as a target for dystonia therapeutics. *Mov Disord*, 32(11), 1537-1545. doi:10.1002/mds.27123

- Trujillo-Pisanty, I., Conover, K., Solis, P., Palacios, D., & Shizgal, P. (2020). Dopamine neurons do not constitute an obligatory stage in the final common path for the evaluation and pursuit of brain stimulation reward. *PLoS One*, *15*(6), e0226722. doi:10.1371/journal.pone.0226722
- Tsai, P.-J., Keeley, R. J., Carmack, S. A., Vendruscolo, J. C. M., Lu, H., Gu, H., Vendruscolo, L. F., Koob, G. F., Lin, C.-P., Stein, E. A., & Yang, Y. (2020). Converging Structural and Functional Evidence for a Rat Salience Network. *Biological Psychiatry*, *88*(11), 867-878. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.06.023>
- Uhl, G. R., Koob, G. F., & Cable, J. (2019). The neurobiology of addiction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1451*(1), 5-28. doi:10.1111/nyas.13989
- Uhl, G. R., Koob, G. F., & Cable, J. (2019). The neurobiology of addiction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1451*(1), 5-28. doi:10.1111/nyas.13989
- Uusisaari, M. Y., & Knöpfel, T. (2012). Diversity of Neuronal Elements and Circuitry in the Cerebellar Nuclei. *The Cerebellum*, *11*(2), 420-421. doi:10.1007/s12311-011-0350-6
- Volkow, N. D., Koob, G. F., & McLellan, A. T. (2016). Neurobiologic Advances from the Brain Disease Model of Addiction. *The New England journal of medicine*, *374*(4), 363-371. doi:10.1056/NEJMra1511480
- Volkow, N. D., Wang, G.-J., Ma, Y., Fowler, J. S., Zhu, W., Maynard, L., Telang, F., Vaska, P., Ding, Y.-S., Wong, C., & Swanson, J. M. (2003). Expectation Enhances the Regional Brain Metabolic and the Reinforcing Effects of Stimulants in Cocaine Abusers. *The Journal of Neuroscience*, *23*(36), 11461-11468. doi:10.1523/jneurosci.23-36-11461.2003
- Wackernah, R. C., Minnick, M. J., & Clapp, P. (2014). Alcohol use disorder: pathophysiology, effects, and pharmacologic options for treatment. *Substance abuse and rehabilitation*, *5*, 1-12. doi:10.2147/SAR.S37907
- Wang, Y., Qin, Y., Li, H., Yao, D., Sun, B., Li, Z., Li, X., Dai, Y., Wen, C., Zhang, L., Zhang, C., Zhu, T., & Luo, C. (2019). Abnormal Functional Connectivity in Cognitive Control Network, Default Mode Network, and Visual Attention Network in Internet Addiction: A Resting-State fMRI Study. *Frontiers in Neurology*, *10*(1006). doi:10.3389/fneur.2019.01006
- Wang, Y., Zuo, C., Xu, Q., & Hao, L. (2021). Cerebellar thickness changes associated with heavy cannabis use: A 3-year longitudinal study. *Addiction biology*, *26*(3), e12931. doi:<https://doi.org/10.1111/adb.12931>
- Warburton, E. C., & Brown, M. W. (2015). Neural circuitry for rat recognition memory. *Behav Brain Res*, *285*, 131-139. doi:10.1016/j.bbr.2014.09.050

- Wise, R. A. (1973). Voluntary ethanol intake in rats following exposure to ethanol on various schedules. *Psychopharmacologia*, 29(3), 203-210. doi:10.1007/bf00414034
- Zhang, R., & Volkow, N. D. (2019). Brain default-mode network dysfunction in addiction. *Neuroimage*, 200, 313-331. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.06.036>

Uncategorized References

- Albus, J. S. (1971). A theory of cerebellar function. *Mathematical Biosciences*, 10(1), 25-61. doi:[https://doi.org/10.1016/0025-5564\(71\)90051-4](https://doi.org/10.1016/0025-5564(71)90051-4)
- Alcaraz, F., Fresno, V., Marchand, A. R., Kremer, E. J., Coutureau, E., & Wolff, M. (2018). Thalamocortical and corticothalamic pathways differentially contribute to goal-directed behaviors in the rat. *eLife*, 7, e32517. doi:10.7554/eLife.32517
- Allen, G., McColl, R., Barnard, H., Ringe, W. K., Fleckenstein, J., & Cullum, C. M. (2005). Magnetic resonance imaging of cerebellar–prefrontal and cerebellar–parietal functional connectivity. *Neuroimage*, 28(1), 39-48. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2005.06.013>
- Anand, M., Diekfuss, J. A., Slutsky-Ganesh, A. B., Bonnette, S., Grooms, D. R., & Myer, G. D. (2020). Graphical interface for automated management of motion artifact within fMRI acquisitions: INFOBAR. *SoftwareX*, 12. doi:10.1016/j.softx.2020.100598
- Andersen, S. N., & Skullerud, K. (1999). Hypoxic/ischaemic brain damage, especially pallidal lesions, in heroin addicts. *Forensic Sci Int*, 102(1), 51-59. doi:10.1016/s0379-0738(99)00040-7
- Ang, C., Zhang, J., Chu, M., Li, H., Tian, M., Feng, X., Zhang, M., Liu, L., Meng, X., & Ding, G. (2020). Intrinsic Cerebro-Cerebellar Functional Connectivity Reveals the Function of Cerebellum VI in Reading-Related Skills. *Frontiers in Psychology*, 11(420). doi:10.3389/fpsyg.2020.00420
- Arlington, V. (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders. *American Psychiatric Association*.
- Ashizawa, T., & Xia, G. (2016). Ataxia. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 22(4 Movement Disorders), 1208-1226. doi:10.1212/CON.0000000000000362
- Baillieux, H., De Smet, H. J., Paquier, P. F., De Deyn, P. P., & Mariën, P. (2008). Cerebellar neurocognition: insights into the bottom of the brain. *Clin Neurol Neurosurg*, 110(8), 763-773. doi:10.1016/j.clineuro.2008.05.013
- Balsters, J. H., Cussans, E., Diedrichsen, J., Phillips, K. A., Preuss, T. M., Rilling, J. K., & Ramnani, N. (2010). Evolution of the cerebellar cortex: the selective expansion of prefrontal-projecting cerebellar lobules. *Neuroimage*, 49(3), 2045-2052. doi:10.1016/j.neuroimage.2009.10.045
- Barrière, D. A., Magalhães, R., Novais, A., Marques, P., Selingue, E., Geffroy, F., Marques, F., Cerqueira, J., Sousa, J. C., Boumezbeur, F., Bottlaender, M., Jay, T. M., Cachia, A., Sousa, N., & Mériaux, S. (2019). The SIGMA rat brain templates and atlases for multimodal MRI data analysis and visualization. *Nature Communications*, 10(1), 5699. doi:10.1038/s41467-019-13575-7
- Becker-Krail, D., & McClung, C. (2016). Implications of circadian rhythm and stress in addiction vulnerability. *F1000Research*, 5, 59-59. doi:10.12688/f1000research.7608.1
- Bell, R. L., Rodd, Z. A., Lumeng, L., Murphy, J. M., & McBride, W. J. (2006). The alcohol-preferring P rat and animal models of excessive alcohol drinking. *Addiction biology*, 11(3-4), 270-288. doi:10.1111/j.1369-1600.2005.00029.x
- Bernard, J., Seidler, R., Hassevoort, K., Benson, B., Welsh, R., Wiggins, J., Jaeggi, S., Buschkuhl, M., Monk, C., Jonides, J., & Peltier, S. (2012). Resting state cortico-cerebellar functional connectivity networks: a comparison of anatomical and self-organizing map approaches. *Frontiers in Neuroanatomy*, 6(31). doi:10.3389/fnana.2012.00031

- Bernard, J. A., & Seidler, R. D. (2014). Moving forward: age effects on the cerebellum underlie cognitive and motor declines. *Neurosci Biobehav Rev*, *42*, 193-207. doi:10.1016/j.neubiorev.2014.02.011
- Bespalov, A., Steckler, T., Altevogt, B., Koustova, E., Skolnick, P., Deaver, D., Millan, M. J., Bastlund, J. F., Doller, D., Witkin, J., Moser, P., O'Donnell, P., Ebert, U., Geyer, M. A., Prinszen, E., Ballard, T., & Macleod, M. (2016). Failed trials for central nervous system disorders do not necessarily invalidate preclinical models and drug targets. *Nat Rev Drug Discov*, *15*(7), 516. doi:10.1038/nrd.2016.88
- Blomfield, S., & Marr, D. (1970). How the cerebellum may be used. *Nature*, *227*(5264), 1224-1228. doi:10.1038/2271224a0
- Boleda, M. D., Julià, P., Moreno, A., Saubi, N., & Parés, X. (1991). The Alcohol Dehydrogenase System in the Rat: Comparison with the Human Enzyme. In T. N. Palmer (Ed.), *Alcoholism: A Molecular Perspective* (pp. 107-114). Boston, MA: Springer US.
- Bostan, A. C., Dum, R. P., & Strick, P. L. (2010). The basal ganglia communicate with the cerebellum. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *107*(18), 8452-8456. doi:10.1073/pnas.1000496107
- Bostan, A. C., Dum, R. P., & Strick, P. L. (2013). Cerebellar networks with the cerebral cortex and basal ganglia. *Trends in cognitive sciences*, *17*(5), 241-254. doi:10.1016/j.tics.2013.03.003
- Bostan, A. C., & Strick, P. L. (2010). The Cerebellum and Basal Ganglia are Interconnected. *Neuropsychology Review*, *20*(3), 261-270. doi:10.1007/s11065-010-9143-9
- Buckner, R. L., Krienen, F. M., Castellanos, A., Diaz, J. C., & Yeo, B. T. (2011). The organization of the human cerebellum estimated by intrinsic functional connectivity. *J Neurophysiol*, *106*(5), 2322-2345. doi:10.1152/jn.00339.2011
- Caligiore, D., Pezzulo, G., Baldassarre, G., Bostan, A. C., Strick, P. L., Doya, K., Helmich, R. C., Dirkx, M., Houk, J., Jörntell, H., Lago-Rodriguez, A., Galea, J. M., Miall, R. C., Popa, T., Kishore, A., Verschure, P. F., Zucca, R., & Herreros, I. (2017). Consensus Paper: Towards a Systems-Level View of Cerebellar Function: the Interplay Between Cerebellum, Basal Ganglia, and Cortex. *Cerebellum (London, England)*, *16*(1), 203-229. doi:10.1007/s12311-016-0763-3
- Canessa, N., Basso, G., Carne, I., Poggi, P., & Gianelli, C. (2021). Increased decision latency in alcohol use disorder reflects altered resting-state synchrony in the anterior salience network. *Scientific Reports*, *11*(1), 19581. doi:10.1038/s41598-021-99211-1
- Carlson, B. X., Belhage, B., Hansen, G. H., Elster, L., Olsen, R. W., & Schousboe, A. (1997). Expression of the GABA(A) receptor alpha6 subunit in cultured cerebellar granule cells is developmentally regulated by activation of GABA(A) receptors. *J Neurosci Res*, *50*(6), 1053-1062. doi:10.1002/(sici)1097-4547(19971215)50:6<1053::Aid-jnr17>3.0.Co;2-5
- Carnicella, S., Ron, D., & Barak, S. (2014). Intermittent ethanol access schedule in rats as a preclinical model of alcohol abuse. *Alcohol*, *48*(3), 243-252. doi:10.1016/j.alcohol.2014.01.006
- Carta, I., Chen, C. H., Schott, A. L., Dorizan, S., & Khodakhah, K. (2019). Cerebellar modulation of the reward circuitry and social behavior. *Science*, *363*(6424). doi:10.1126/science.aav0581
- Chanraud, S., Martelli, C., Delain, F., Kostogianni, N., Douaud, G., Aubin, H. J., Reynaud, M., & Martinot, J. L. (2007). Brain morphometry and cognitive performance in detoxified alcohol-dependents with preserved psychosocial functioning. *Neuropsychopharmacology*, *32*(2), 429-438. doi:10.1038/sj.npp.1301219
- Chanraud, S., Pitel, A. L., Rohlfing, T., Pfefferbaum, A., & Sullivan, E. V. (2010). Dual tasking and working memory in alcoholism: relation to frontocerebellar circuitry. *Neuropsychopharmacology*, *35*(9), 1868-1878. doi:10.1038/npp.2010.56
- Chou, Y., Chang, C., Remedios, S. W., Butman, J. A., Chan, L., & Pham, D. L. (2022). Automated Classification of Resting-State fMRI ICA Components Using a Deep Siamese Network. *Frontiers in neuroscience*, *16*, 768634. doi:10.3389/fnins.2022.768634

- Collaborators, G. B. D. A. (2018). Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet (London, England)*, *392*(10152), 1015-1035. doi:10.1016/S0140-6736(18)31310-2
- Courchesne, E., Hesselink, J. R., Jernigan, T. L., & Yeung-Courchesne, R. (1987). Abnormal neuroanatomy in a nonretarded person with autism. Unusual findings with magnetic resonance imaging. *Arch Neurol*, *44*(3), 335-341. doi:10.1001/archneur.1987.00520150073028
- Courchesne, E., Yeung-Courchesne, R., Press, G. A., Hesselink, J. R., & Jernigan, T. L. (1988). Hypoplasia of cerebellar vermal lobules VI and VII in autism. *N Engl J Med*, *318*(21), 1349-1354. doi:10.1056/nejm198805263182102
- D'Angelo, E., & Casali, S. (2012). Seeking a unified framework for cerebellar function and dysfunction: from circuit operations to cognition. *Front Neural Circuits*, *6*, 116. doi:10.3389/fncir.2012.00116
- D'Mello, A., & Stoodley, C. (2015). Cerebro-cerebellar circuits in autism spectrum disorder. *Frontiers in neuroscience*, *9*. doi:10.3389/fnins.2015.00408
- D'Angelo, E., Antonietti, A., Casali, S., Casellato, C., Garrido, J. A., Luque, N. R., Mapelli, L., Masoli, S., Pedrocchi, A., Prestori, F., Rizza, M. F., & Ros, E. (2016). Modeling the Cerebellar Microcircuit: New Strategies for a Long-Standing Issue. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *10*(176). doi:10.3389/fncel.2016.00176
- Dave, S., VanHaerents, S., & Voss, J. L. (2020). Cerebellar Theta and Beta Noninvasive Stimulation Rhythms Differentially Influence Episodic Memory versus Semantic Prediction. *The Journal of Neuroscience*, *40*(38), 7300-7310. doi:10.1523/jneurosci.0595-20.2020
- De Bellis, M. D., Narasimhan, A., Thatcher, D. L., Keshavan, M. S., Soloff, P., & Clark, D. B. (2005). Prefrontal cortex, thalamus, and cerebellar volumes in adolescents and young adults with adolescent-onset alcohol use disorders and comorbid mental disorders. *Alcohol Clin Exp Res*, *29*(9), 1590-1600. doi:10.1097/01.alc.0000179368.87886.76
- De Vidovich, G. Z., Muffatti, R., Monaco, J., Caramia, N., Brogna, D., Caverzasi, E., Barale, F., & D'Angelo, E. (2016). Repetitive TMS on Left Cerebellum Affects Impulsivity in Borderline Personality Disorder: A Pilot Study. *Frontiers in human neuroscience*, *10*, 582-582. doi:10.3389/fnhum.2016.00582
- Diamond, A. (2000). Close interrelation of motor development and cognitive development and of the cerebellum and prefrontal cortex. *Child Dev*, *71*(1), 44-56. doi:10.1111/1467-8624.00117
- Dum, R. P., & Strick, P. L. (2003). An Unfolded Map of the Cerebellar Dentate Nucleus and its Projections to the Cerebral Cortex. *Journal of Neurophysiology*, *89*(1), 634-639. doi:10.1152/jn.00626.2002
- Ersche, K. D., Meng, C., Ziauddeen, H., Stochl, J., Williams, G. B., Bullmore, E. T., & Robbins, T. W. (2020). Brain networks underlying vulnerability and resilience to drug addiction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *117*(26), 15253-15261. doi:10.1073/pnas.2002509117
- Ewin, S. E., Morgan, J. W., Niere, F., McMullen, N. P., Barth, S. H., Almonte, A. G., Raab-Graham, K. F., & Weiner, J. L. (2019). Chronic Intermittent Ethanol Exposure Selectively Increases Synaptic Excitability in the Ventral Domain of the Rat Hippocampus. *Neuroscience*, *398*, 144-157. doi:10.1016/j.neuroscience.2018.11.028
- Flores-Bonilla, A., & Richardson, H. N. (2020). Sex Differences in the Neurobiology of Alcohol Use Disorder. *Alcohol research : current reviews*, *40*(2), 04-04. doi:10.35946/arcr.v40.2.04
- Fu, R., Gregor, D., Peng, Z., Li, J., Bekker, A., & Ye, J. (2015). Chronic intermittent voluntary alcohol drinking induces hyperalgesia in Sprague-Dawley rats. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*, *7*(3), 136-144. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26823962>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4697669/>

- Gilpin, N. W., Richardson, H. N., Cole, M., & Koob, G. F. (2008). Vapor inhalation of alcohol in rats. *Current protocols in neuroscience, Chapter 9*, Unit-9.29. doi:10.1002/0471142301.ns0929s44
- Grandjean, J., Canella, C., Anckaerts, C., Ayranci, G., Bougacha, S., Bienert, T., Buehlmann, D., Coletta, L., Gallino, D., Gass, N., Garin, C. M., Nadkarni, N. A., Hübner, N. S., Karatas, M., Komaki, Y., Kreitz, S., Mandino, F., Mechling, A. E., Sato, C., Sauer, K., Shah, D., Strobelt, S., Takata, N., Wank, I., Wu, T., Yahata, N., Yeow, L. Y., Yee, Y., Aoki, I., Chakravarty, M. M., Chang, W.-T., Dhenain, M., von Elverfeldt, D., Harsan, L.-A., Hess, A., Jiang, T., Keliris, G. A., Lerch, J. P., Meyer-Lindenberg, A., Okano, H., Rudin, M., Sartorius, A., Van der Linden, A., Verhoye, M., Weber-Fahr, W., Wenderoth, N., Zerbi, V., & Gozzi, A. (2020). Common functional networks in the mouse brain revealed by multi-centre resting-state fMRI analysis. *Neuroimage, 205*, 116278. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.116278>
- Grandjean, J., Desrosiers-Gregoire, G., Anckaerts, C., Angeles-Valdez, D., Ayad, F., Barrière, D. A., Blockx, I., Bortel, A. B., Broadwater, M., Cardoso, B. M., Célestine, M., Chavez-Negrete, J. E., Choi, S., Christiaen, E., Clavijo, P., Colon-Perez, L., Cramer, S., Daniele, T., Dempsey, E., Diao, Y., Doelemeyer, A., Dopfel, D., Dvořáková, L., Falfán-Melgoza, C., Fernandes, F. F., Fowler, C. F., Fuentes-Ibañez, A., Garin, C., Gelderman, E., Golden, C. E. M., Guo, C. C. G., Henckens, M. J. A. G., Hennessy, L. A., Herman, P., Hofwijks, N., Horien, C., Ionescu, T. M., Jones, J., Kaesser, J., Kim, E., Lambers, H., Lazari, A., Lee, S.-H., Lillywhite, A., Liu, Y., Liu, Y. Y., López-Castro, A., López-Gil, X., Ma, Z., MacNicol, E., Madularu, D., Mandino, F., Marciano, S., McAuslan, M. J., McCunn, P., McIntosh, A., Meng, X., Meyer-Baese, L., Missault, S., Moro, F., Naessens, D., Nava-Gomez, L. J., Nonaka, H., Ortiz, J. J., Paasonen, J., Peeters, L. M., Pereira, M., Perez, P. D., Pompilus, M., Prior, M., Rakhmatullin, R., Reimann, H. M., Reinwald, J., de Rio, R. T., Rivera-Olvera, A., Ruiz-Pérez, D., Russo, G., Rutten, T. J., Ryoke, R., Sack, M., Salvan, P., Sanganahalli, B. G., Schroeter, A., Seewoo, B. J., Selingue, E., Seuwen, A., Shi, B., Sirmipilatz, N., Smith, J. A. B., Smith, C., Sobczak, F., Stenroos, P. J., Straathof, M., Strobelt, S., Sumiyoshi, A., Takahashi, K., Torres-García, M. E., Tudela, R., van den Berg, M., van der Marel, K., van Hout, A. T. B., Vertullo, R., Vidal, B., Vrooman, R. M., Wang, V. X., Wank, I., Watson, D. J. G., Yin, T., Zhang, Y., Zurbrugg, S., Achard, S., Alcauter, S., Auer, D. P., Barbier, E. L., Baudewig, J., Beckmann, C. F., Beckmann, N., Becq, G. J. P. C., Blezer, E. L. A., Bolbos, R., Boretius, S., Bouvard, S., Budinger, E., Buxbaum, J. D., Cash, D., Chapman, V., Chuang, K.-H., Ciobanu, L., Coolen, B., Dalley, J. W., Dhenain, M., Dijkhuizen, R. M., Esteban, O., Faber, C., Febo, M., Feindel, K. W., Forloni, G., Fouquet, J., Garza-Villarreal, E. A., Gass, N., Glennon, J. C., Gozzi, A., Gröhn, O., Harkin, A., Heerschap, A., Helluy, X., Herfert, K., Heuser, A., Homberg, J. R., Houwing, D. J., Hyder, F., Ielacqua, G. D., Jelescu, I. O., Johansen-Berg, H., Kaneko, G., Kawashima, R., Keilholz, S. D., Keliris, G. A., Kelly, C., Kerskens, C., Khokhar, J. Y., Kind, P. C., Langlois, J.-B., Lerch, J. P., López-Hidalgo, M. A., Manahan-Vaughan, D., Marchand, F., Mars, R. B., Marsella, G., Micotti, E., Muñoz-Moreno, E., Near, J., Niendorf, T., Otte, W. M., Pais, P., Pan, W.-J., Prado-Alcalá, R. A., Quirarte, G. L., Rodger, J., Rosenow, T., Baptista, C. S., Sartorius, A., Sawiak, S. J., Scheenen, T. W. J., Shemesh, N., Shih, Y.-Y. I., Shmuel, A., Soria, G., Stoop, R., Thompson, G. J., Till, S. M., Todd, N., Van Der Linden, A., van der Toorn, A., van Tilborg, G. A. F., Vanhove, C., Veltien, A., Verhoye, M., Wachsmuth, L., Weber-Fahr, W., Wenk, P., Yu, X., Zerbi, V., Zhang, N., Zhang, B. B., Zimmer, L., Devenyi, G. A., Chakravarty, M. M., & Hess, A. (2022). StandardRat: A multi-center consensus protocol to enhance functional connectivity specificity in the rat brain. *bioRxiv*, 2022.2004.2027.489658. doi:10.1101/2022.04.27.489658
- Grandjean, J., Zerbi, V., Balsters, J. H., Wenderoth, N., & Rudin, M. (2017). Structural Basis of Large-Scale Functional Connectivity in the Mouse. *The Journal of Neuroscience, 37*(34), 8092-8101. doi:10.1523/jneurosci.0438-17.2017

- Greger, B., & Norris, S. (2005). Simple spike firing in the posterior lateral cerebellar cortex of Macaque Mulatta was correlated with success-failure during a visually guided reaching task. *Exp Brain Res*, 167(4), 660-665. doi:10.1007/s00221-005-0155-2
- Gutierrez-Barragan, D., Singh, N. A., Alvino, F. G., Coletta, L., Rocchi, F., De Guzman, E., Galbusera, A., Uboldi, M., Panzeri, S., & Gozzi, A. (2022). Unique spatiotemporal fMRI dynamics in the awake mouse brain. *Current Biology*, 32(3), 631-644.e636. doi:10.1016/j.cub.2021.12.015
- Habas, C. (2021). Functional Connectivity of the Cognitive Cerebellum. *Frontiers in systems neuroscience*, 15(27). doi:10.3389/fnsys.2021.642225
- Habas, C., Kamdar, N., Nguyen, D., Prater, K., Beckmann, C. F., Menon, V., & Greicius, M. D. (2009). Distinct Cerebellar Contributions to Intrinsic Connectivity Networks. *The Journal of Neuroscience*, 29(26), 8586-8594. doi:10.1523/jneurosci.1868-09.2009
- Habas, C., Kamdar, N., Nguyen, D., Prater, K., Beckmann, C. F., Menon, V., & Greicius, M. D. (2009). Distinct cerebellar contributions to intrinsic connectivity networks. *J Neurosci*, 29(26), 8586-8594. doi:10.1523/jneurosci.1868-09.2009
- Haber, S. N., & Knutson, B. (2010). The reward circuit: linking primate anatomy and human imaging. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 4-26. doi:10.1038/npp.2009.129
- Halko, M. A., Farzan, F., Eldaief, M. C., Schmahmann, J. D., & Pascual-Leone, A. (2014). Intermittent theta-burst stimulation of the lateral cerebellum increases functional connectivity of the default network. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 34(36), 12049-12056. doi:10.1523/JNEUROSCI.1776-14.2014
- Huang, Y., Mohan, A., De Ridder, D., Sunaert, S., & Vanneste, S. (2018). The neural correlates of the unified percept of alcohol-related craving: a fMRI and EEG study. *Scientific Reports*, 8(1), 923. doi:10.1038/s41598-017-18471-y
- Ito, M. (2006). Cerebellar circuitry as a neuronal machine. *Prog Neurobiol*, 78(3-5), 272-303. doi:10.1016/j.pneurobio.2006.02.006
- Jadhav, K. S., Magistretti, P. J., Halfon, O., Augsburger, M., & Boutrel, B. (2017). A preclinical model for identifying rats at risk of alcohol use disorder. *Scientific Reports*, 7(1), 9454. doi:10.1038/s41598-017-09801-1
- Jesse, S., Bräthen, G., Ferrara, M., Keindl, M., Ben-Menachem, E., Tanasescu, R., Brodtkorb, E., Hillbom, M., Leone, M. A., & Ludolph, A. C. (2017). Alcohol withdrawal syndrome: mechanisms, manifestations, and management. *Acta neurologica Scandinavica*, 135(1), 4-16. doi:10.1111/ane.12671
- Kaja, S., Payne, A. J., Nielsen, E., Thompson, C. L., van den Maagdenberg, A. M., Koulen, P., & Snutch, T. P. (2015). Differential cerebellar GABAA receptor expression in mice with mutations in CaV2.1 (P/Q-type) calcium channels. *Neuroscience*, 304, 198-208. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.07.044
- Kamali, A., Kramer, L. A., Frye, R. E., Butler, I. J., & Hasan, K. M. (2010). Diffusion tensor tractography of the human brain cortico-ponto-cerebellar pathways: a quantitative preliminary study. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 32(4), 809-817. doi:10.1002/jmri.22330
- Kamigaki, T. (2018). Prefrontal circuit organization for executive control. *Neuroscience Research*, 140. doi:10.1016/j.neures.2018.08.017
- Kelly, R. E., Jr., Alexopoulos, G. S., Wang, Z., Gunning, F. M., Murphy, C. F., Morimoto, S. S., Kanellopoulos, D., Jia, Z., Lim, K. O., & Hoptman, M. J. (2010). Visual inspection of independent components: defining a procedure for artifact removal from fMRI data. *J Neurosci Methods*, 189(2), 233-245. doi:10.1016/j.jneumeth.2010.03.028
- Kelly, R. M., & Strick, P. L. (2003). Cerebellar Loops with Motor Cortex and Prefrontal Cortex of a Nonhuman Primate. *The Journal of Neuroscience*, 23(23), 8432-8444. doi:10.1523/jneurosci.23-23-08432.2003

- Koob, G. F. (2013). Theoretical frameworks and mechanistic aspects of alcohol addiction: alcohol addiction as a reward deficit disorder. *Curr Top Behav Neurosci*, 13, 3-30. doi:10.1007/7854_2011_129
- Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of Addiction. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 217-238. doi:10.1038/npp.2009.110
- Koziol, L. F., Budding, D., Andreasen, N., D'Arrigo, S., Bulgheroni, S., Imamizu, H., Ito, M., Manto, M., Marvel, C., Parker, K., Pezzulo, G., Ramnani, N., Riva, D., Schmahmann, J., Vandervert, L., & Yamazaki, T. (2014). Consensus paper: the cerebellum's role in movement and cognition. *Cerebellum (London, England)*, 13(1), 151-177. doi:10.1007/s12311-013-0511-x
- Krienen, F. M., & Buckner, R. L. (2009). Segregated Fronto-Cerebellar Circuits Revealed by Intrinsic Functional Connectivity. *Cerebral Cortex*, 19(10), 2485-2497. doi:10.1093/cercor/bhp135
- Kühn, S., Romanowski, A., Schilling, C., Mobascher, A., Warbrick, T., Winterer, G., & Gallinat, J. (2012). Brain grey matter deficits in smokers: focus on the cerebellum. *Brain Struct Funct*, 217(2), 517-522. doi:10.1007/s00429-011-0346-5
- Labrada-Moncada, F. E., Martínez-Torres, A., & Reyes-Haro, D. (2020). GABA(A) Receptors are Selectively Expressed in NG2 Glia of the Cerebellar White Matter. *Neuroscience*, 433, 132-143. doi:10.1016/j.neuroscience.2020.03.003
- Lee, Ka H., Mathews, Paul J., Reeves, Alexander M. B., Choe, Katrina Y., Jami, Shekib A., Serrano, Raul E., & Otis, Thomas S. (2015). Circuit Mechanisms Underlying Motor Memory Formation in the Cerebellum. *Neuron*, 86(2), 529-540. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.03.010>
- Lewis, M. M., Galley, S., Johnson, S., Stevenson, J., Huang, X., & McKeown, M. J. (2013). The role of the cerebellum in the pathophysiology of Parkinson's disease. *Can J Neurol Sci*, 40(3), 299-306. doi:10.1017/s0317167100014232
- Manjón, J. V., Coupé, P., Martí-Bonmatí, L., Collins, D. L., & Robles, M. (2010). Adaptive non-local means denoising of MR images with spatially varying noise levels. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 31(1), 192-203. doi:10.1002/jmri.22003
- Marr, D. (1969). A theory of cerebellar cortex. *J Physiol*, 202(2), 437-470. doi:10.1113/jphysiol.1969.sp008820
- Medina, J. F., & Lisberger, S. G. (2008). Links from complex spikes to local plasticity and motor learning in the cerebellum of awake-behaving monkeys. *Nat Neurosci*, 11(10), 1185-1192. doi:10.1038/nn.2197
- Miquel, M., Toledo, R., García, L. I., Coria-Avila, G. A., & Manzo, J. (2009). Why should we keep the cerebellum in mind when thinking about addiction? *Curr Drug Abuse Rev*, 2(1), 26-40. doi:10.2174/1874473710902010026
- Moulton, E. A., Elman, I., Becerra, L. R., Goldstein, R. Z., & Borsook, D. (2014). The cerebellum and addiction: insights gained from neuroimaging research. *Addiction biology*, 19(3), 317-331. doi:10.1111/adb.12101
- Mouraux, A., Diukova, A., Lee, M. C., Wise, R. G., & Iannetti, G. D. (2011). A multisensory investigation of the functional significance of the "pain matrix". *Neuroimage*, 54(3), 2237-2249. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.09.084
- Nephew, B. C., Febo, M., Cali, R., Workman, K. P., Payne, L., Moore, C. M., King, J. A., & Lacreuse, A. (2020). Robustness of sex-differences in functional connectivity over time in middle-aged marmosets. *Scientific Reports*, 10(1), 16647. doi:10.1038/s41598-020-73811-9
- O'Reilly, J. X., Beckmann, C. F., Tomassini, V., Ramnani, N., & Johansen-Berg, H. (2009). Distinct and Overlapping Functional Zones in the Cerebellum Defined by Resting State Functional Connectivity. *Cerebral Cortex*, 20(4), 953-965. doi:10.1093/cercor/bhp157

- Ogundele, O. M., Lee, C. C., & Francis, J. (2017). Thalamic dopaminergic neurons projects to the paraventricular nucleus-rostral ventrolateral medulla/C1 neural circuit. *Anat Rec (Hoboken)*, 300(7), 1307-1314. doi:10.1002/ar.23528
- Palesi, F., De Rinaldis, A., Castellazzi, G., Calamante, F., Muhlert, N., Chard, D., Tournier, J. D., Magenes, G., D'Angelo, E., & Gandini Wheeler-Kingshott, C. A. M. (2017). Contralateral cortico-ponto-cerebellar pathways reconstruction in humans in vivo: implications for reciprocal cerebro-cerebellar structural connectivity in motor and non-motor areas. *Scientific Reports*, 7(1), 12841. doi:10.1038/s41598-017-13079-8
- Payne, M., Mali, I., McKinnell, Z. E., Vangsness, L., Shrestha, T. B., Bossmann, S. H., & Plakke, B. (2021). Increased volumes of lobule VI in a valproic acid model of autism are associated with worse set-shifting performance in male Long-Evan rats. *Brain Research*, 1765, 147495. doi:<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147495>
- Phillips, S. C., Harper, C. G., & Kril, J. (1987). A quantitative histological study of the cerebellar vermis in alcoholic patients. *Brain*, 110 (Pt 2), 301-314. doi:10.1093/brain/110.2.301
- Pickersgill, M. D. (2014). Debating DSM-5: diagnosis and the sociology of critique. *Journal of medical ethics*, 40(8), 521-525. doi:10.1136/medethics-2013-101762
- Pull, C. B. (1995). [DSM-IV]. *Encephale*, 21 Spec No 5, 15-20.
- Radke, A. K., Sneddon, E. A., Frasier, R. M., & Hopf, F. W. (2021). Recent Perspectives on Sex Differences in Compulsion-Like and Binge Alcohol Drinking. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3788. doi:10.3390/ijms22073788
- Ramnani, N. (2006). The primate cortico-cerebellar system: anatomy and function. *Nat Rev Neurosci*, 7(7), 511-522. doi:10.1038/nrn1953
- Reeber, S. L., Otis, T. S., & Sillitoe, R. V. (2013). New roles for the cerebellum in health and disease. *Frontiers in systems neuroscience*, 7, 83-83. doi:10.3389/fnsys.2013.00083
- Sang, L., Qin, W., Liu, Y., Han, W., Zhang, Y., Jiang, T., & Yu, C. (2012). Resting-state functional connectivity of the vermal and hemispheric subregions of the cerebellum with both the cerebral cortical networks and subcortical structures. *Neuroimage*, 61(4), 1213-1225. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.04.011
- Schmahmann, J. (1997). *The Cerebellum and Cognition* (Vol. 41). London: Academic Press.
- Schmahmann, J. D. (2019). The cerebellum and cognition. *Neuroscience Letters*, 688, 62-75. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.07.005>
- Schmahmann, J. D., Rosene, D. L., & Pandya, D. N. (2004). Motor projections to the basis pontis in rhesus monkey. *J Comp Neurol*, 478(3), 248-268. doi:10.1002/cne.20286
- Seamans, J. K., Lapish, C. C., & Durstewitz, D. (2008). Comparing the prefrontal cortex of rats and primates: insights from electrophysiology. *Neurotox Res*, 14(2-3), 249-262. doi:10.1007/bf03033814
- Sheu, Y. S., & Desmond, J. E. (2021). Cerebro-Cerebellar Response to Sequence Violation in a Cognitive Task: an fMRI Study. *Cerebellum (London, England)*. doi:10.1007/s12311-021-01279-y
- Shiffrin, R. M., & Schneider, W. (1984). Automatic and controlled processing revisited. *Psychol Rev*, 91(2), 269-276.
- Sim, M. E., Lyoo, I. K., Streeter, C. C., Covell, J., Sarid-Segal, O., Ciraulo, D. A., Kim, M. J., Kaufman, M. J., Yurgelun-Todd, D. A., & Renshaw, P. F. (2007). Cerebellar gray matter volume correlates with duration of cocaine use in cocaine-dependent subjects. *Neuropsychopharmacology*, 32(10), 2229-2237. doi:10.1038/sj.npp.1301346
- Simms, J. A., Steensland, P., Medina, B., Abernathy, K. E., Chandler, L. J., Wise, R., & 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. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00753.x>

- Spanagel, R. (2017). Animal models of addiction. *Dialogues in clinical neuroscience*, 19(3), 247-258. doi:10.31887/DCNS.2017.19.3/rspanagel
- Srivastava, P. (2015). The cerebellum: Learning movement, language, and social skills. *The Indian Journal of Medical Research*, 141(6), 847-848. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4525418/>
- Stoodley, C. J., & Schmahmann, J. D. (2009). Functional topography in the human cerebellum: A meta-analysis of neuroimaging studies. *Neuroimage*, 44(2), 489-501. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.08.039>
- Stoodley, C. J., Valera, E. M., & Schmahmann, J. D. (2012). Functional topography of the cerebellum for motor and cognitive tasks: An fMRI study. *Neuroimage*, 59(2), 1560-1570. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.08.065>
- Suckling, J., & Nestor, L. J. (2017). The neurobiology of addiction: the perspective from magnetic resonance imaging present and future. *Addiction (Abingdon, England)*, 112(2), 360-369. doi:10.1111/add.13474
- Sugihara, I. (2018). Crus I in the Rodent Cerebellum: Its Homology to Crus I and II in the Primate Cerebellum and Its Anatomical Uniqueness Among Neighboring Lobules. *Cerebellum (London, England)*, 17(1), 49-55. doi:10.1007/s12311-017-0911-4
- Suk, J.-W., Hwang, S., & Cheong, C. (2021). Functional and Structural Alteration of Default Mode, Executive Control, and Salience Networks in Alcohol Use Disorder. *Frontiers in psychiatry*, 12, 742228-742228. doi:10.3389/fpsyt.2021.742228
- Sullivan, E. V., Rohlfing, T., & Pfefferbaum, A. (2010). Pontocerebellar volume deficits and ataxia in alcoholic men and women: no evidence for "telescoping". *Psychopharmacology (Berl)*, 208(2), 279-290. doi:10.1007/s00213-009-1729-7
- Sullivan, R. J., & Hagen, E. H. (2002). Psychotropic substance-seeking: evolutionary pathology or adaptation? *Addiction (Abingdon, England)*, 97(4), 389-400. doi:10.1046/j.1360-0443.2002.00024.x
- Sutherland, M. T., McHugh, M. J., Pariyadath, V., & Stein, E. A. (2012). Resting state functional connectivity in addiction: Lessons learned and a road ahead. *Neuroimage*, 62(4), 2281-2295. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.01.117
- Taylor, S., Lewis, C., & Olive, M. F. (2013). The neurocircuitry of illicit psychostimulant addiction: acute and chronic effects in humans. *Substance abuse and rehabilitation*, 4, 29-43. doi:10.2147/SAR.S39684
- Tewari, A., Fremont, R., & Khodakhah, K. (2017). It's not just the basal ganglia: Cerebellum as a target for dystonia therapeutics. *Mov Disord*, 32(11), 1537-1545. doi:10.1002/mds.27123
- Trujillo-Pisanty, I., Conover, K., Solis, P., Palacios, D., & Shizgal, P. (2020). Dopamine neurons do not constitute an obligatory stage in the final common path for the evaluation and pursuit of brain stimulation reward. *PLoS One*, 15(6), e0226722. doi:10.1371/journal.pone.0226722
- Tsai, P.-J., Keeley, R. J., Carmack, S. A., Vendruscolo, J. C. M., Lu, H., Gu, H., Vendruscolo, L. F., Koob, G. F., Lin, C.-P., Stein, E. A., & Yang, Y. (2020). Converging Structural and Functional Evidence for a Rat Salience Network. *Biological Psychiatry*, 88(11), 867-878. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.06.023>
- Uhl, G. R., Koob, G. F., & Cable, J. (2019). The neurobiology of addiction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1451(1), 5-28. doi:10.1111/nyas.13989
- Uhl, G. R., Koob, G. F., & Cable, J. (2019). The neurobiology of addiction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1451(1), 5-28. doi:10.1111/nyas.13989
- Uusisaari, M. Y., & Knöpfel, T. (2012). Diversity of Neuronal Elements and Circuitry in the Cerebellar Nuclei. *The Cerebellum*, 11(2), 420-421. doi:10.1007/s12311-011-0350-6

- Volkow, N. D., Koob, G. F., & McLellan, A. T. (2016). Neurobiologic Advances from the Brain Disease Model of Addiction. *The New England journal of medicine*, *374*(4), 363-371. doi:10.1056/NEJMra1511480
- Volkow, N. D., Wang, G.-J., Ma, Y., Fowler, J. S., Zhu, W., Maynard, L., Telang, F., Vaska, P., Ding, Y.-S., Wong, C., & Swanson, J. M. (2003). Expectation Enhances the Regional Brain Metabolic and the Reinforcing Effects of Stimulants in Cocaine Abusers. *The Journal of Neuroscience*, *23*(36), 11461-11468. doi:10.1523/jneurosci.23-36-11461.2003
- Wackernah, R. C., Minnick, M. J., & Clapp, P. (2014). Alcohol use disorder: pathophysiology, effects, and pharmacologic options for treatment. *Substance abuse and rehabilitation*, *5*, 1-12. doi:10.2147/SAR.S37907
- Wang, Y., Qin, Y., Li, H., Yao, D., Sun, B., Li, Z., Li, X., Dai, Y., Wen, C., Zhang, L., Zhang, C., Zhu, T., & Luo, C. (2019). Abnormal Functional Connectivity in Cognitive Control Network, Default Mode Network, and Visual Attention Network in Internet Addiction: A Resting-State fMRI Study. *Frontiers in Neurology*, *10*(1006). doi:10.3389/fneur.2019.01006
- Wang, Y., Zuo, C., Xu, Q., & Hao, L. (2021). Cerebellar thickness changes associated with heavy cannabis use: A 3-year longitudinal study. *Addiction biology*, *26*(3), e12931. doi:<https://doi.org/10.1111/adb.12931>
- Wang, Z., Liang, S., Yu, S., Xie, T., Wang, B., Wang, J., Li, Y., Shan, B., & Cui, C. (2017). Distinct Roles of Dopamine Receptors in the Lateral Thalamus in a Rat Model of Decisional Impulsivity. *Neuroscience bulletin*, *33*(4), 413-422. doi:10.1007/s12264-017-0146-x
- Wise, R. A. (1973). Voluntary ethanol intake in rats following exposure to ethanol on various schedules. *Psychopharmacologia*, *29*(3), 203-210. doi:10.1007/bf00414034
- Yildirim, F. B., & Sarikcioglu, L. (2007). Marie Jean Pierre Flourens (1794 1867): an extraordinary scientist of his time. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, *78*(8), 852-852. doi:10.1136/jnnp.2007.118380
- Yuen, N. H., Osachoff, N., & Chen, J. J. (2019). Intrinsic Frequencies of the Resting-State fMRI Signal: The Frequency Dependence of Functional Connectivity and the Effect of Mode Mixing. *Frontiers in neuroscience*, *13*, 900. doi:10.3389/fnins.2019.00900
- Zhang, R., & Volkow, N. D. (2019). Brain default-mode network dysfunction in addiction. *Neuroimage*, *200*, 313-331. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.06.036>