



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación

Trabajo Fin de Grado

Implicación de la Corteza Insular en la evocación de las preferencias gustativas condicionadas

Alumno/a: Marta Pozo Rodríguez

Tutor/a: Antonio David Rodríguez Agüera
Dpto.: Departamento de Psicología (Área de Psicobiología)

Mayo, 2021

Índice

Resumen.....	3
Abstract	3
1. Introducción	4
2. Materiales y métodos	6
2.1. Sujetos	6
2.2. Procedimientos quirúrgicos	7
2.3. Procedimiento experimental	8
2.4. Histología.....	10
2.5. Análisis estadísticos.....	11
3. Resultados	11
4. Discusión.....	14
Referencias bibliográficas.....	17

Resumen

El papel de la corteza insular (CI) ha sido muy estudiado en relación con la memoria y el aprendizaje. La administración de lidocaína inactivó la CI tras la adquisición del aprendizaje apetitivo gustativo (AApG) inducido por glucosa, que consistió en 5 ensayos en los cuales tanto al grupo control como al grupo experimental se les presentaban dos buretas simultáneamente con dos sabores: fresa (F) y coco (C). La ingesta de uno de los sabores se emparejó con la administración de glucosa y el otro sabor con suero fisiológico (SF). Posteriormente, se inactivó la CI (Día 6) y fueron sometidos a la prueba de discriminación, el grupo experimental no mostró AApG mientras que el grupo control sí. Una vez revertida la acción de la lidocaína (Día 7), ambos grupos mostraron aprendizaje. En virtud de ello, estos resultados sugieren que la inactivación de la CI bloquea las preferencias gustativas condicionadas.

Palabras clave: drogadicción, *craving*, recaída, aprendizaje apetitivo gustativo (AApG), corteza insular (CI).

Abstract

The role of the insular crust (IC) has been extensively studied in relation to memory and learning. The administration of lidocaine inactivated IC after the acquisition of the Taste Appetitive Learning (TAL) induced by glucose, which consisted of 5 trials in which both the control group and the experimental group were presented with two burettes simultaneously with two flavors: strawberry (S) and coconut (C). The intake of one of the flavors was paired with the administration of glucose and the other flavor with physiological saline (PS). Subsequently, the IC was inactivated (Day 6) and they were subjected to the discrimination test, the experimental group did not show TAL while the control group did. Once the action of lidocaine was reversed (day 7), both groups showed learning. By virtue of this, these results suggest that IC inactivation blocks conditioned preferences.

Keywords: drug addiction, *craving*, relapse, taste appetitive learning (TAL), insular cortex (IC).

1. Introducción

La drogadicción es un fenómeno que se caracteriza por la incapacidad de controlar el consumo de una sustancia a pesar de los efectos y las consecuencias negativas que pueden llegar a producir (Naqvi y cols. 2014) presentando múltiples recaídas durante el periodo de desintoxicación de éstas debido, entre otras causas, por el deseo irrefrenable por consumir la droga (*craving*), lo que induce el impulso consumatorio (búsqueda de la droga) para reducir dicho deseo (Beck y cols. 1999; Koob y cols. 2016).

El *craving* por las drogas se ha conceptualizado como la querencia o apetencia por re-experimentar los efectos de éstas, un fuerte deseo subjetivo o ansia irresistible, un pensamiento o requerimiento obsesivo por la búsqueda de alivio ante las sensaciones de un síndrome de abstinencia, es decir, un incentivo motivacional para la auto-administración de las drogas, como expectativas hacia los efectos positivos (Beck y cols. 1999; Castillo y cols. 2008). De hecho, la mayoría de las teorías integrales proponen que el *craving* es un factor clave para comprender los procesos motivacionales de la drogadicción y así intentar discernir cuáles son las fuentes y el proceso del deseo por la droga (Tiffany y cols. 2012). Por lo tanto, este proceso de anticipación de la droga perpetuaría la adicción convirtiéndola en un trastorno crónico recurrente (Tiffany y cols. 2000). En este sentido, se ha observado que los estímulos asociados con las propiedades recompensantes de las drogas inducen *craving* por éstas y, por consiguiente, un aumento de la probabilidad de las recaídas (Goldstein y cols. 2002; González y cols. 2011).

Con respecto al sustrato neurobiológico que subyace a la drogadicción, las neuroadaptaciones inducidas por el consumo crónico de las drogas en el sistema de recompensa cerebral dopaminérgico mesolímbico parecen ser las responsables de los síntomas de la drogadicción, considerándose a la corteza insular (CI) como uno de los componentes cerebrales relevantes en el procesamiento del *craving* inducido por las drogas (Naqvi y cols. 2014). La CI es una estructura cerebral localizada bajo la cisura de Silvio que presenta múltiples conexiones con distintas estructuras cerebrales implicadas en la drogadicción, entre otras, la corteza prefrontal (Abdollahi y cols. 2017) y el complejo tálamo-amigdalino (Carleton y cols. 2010). De hecho, estudios recientes han relacionado la CI con la integración multisensorial, tanto intero- como exteroceptiva, considerándose uno de los centros neurales relevantes donde converge el procesamiento tanto de las propiedades recompensantes de las drogas (señal

interoceptiva) así como de la asociación de éstas con los estímulos ambientales relacionados (señal exteroceptiva) (Craig, 2002; Baker y cols. 2004; Contreras y cols. 2008; Kurth y cols. 2010; Paulus y Stewart, 2014). De hecho, existen autores que consideran que el engrama de memoria de la asociación entre las claves intero- (p.ej. sensación apetitiva visceral inducida por las drogas) y las exteroceptivas (p.ej. un lugar o un sabor) sería un factor clave en los procesos de drogadicción (Baker y cols. 2004; Paulus y Stewart, 2014).

De acuerdo con esta idea, se ha observado en humanos que tanto los estímulos asociados a las drogas así como el *craving* inducido por ellos activan la CI (Wang y cols. 1999; Bonson, 2002; Moran y cols. 2017) y que su lesión producida un por accidente cerebrovascular isquémico agudo bloquea el *craving* inducido por las drogas (Naqvi y cols. 2007; Abdolahi y cols. 2017). Más aún, existen estudios con modelos animales que muestran que la inactivación reversible de la CI bloquea la expresión de la preferencia condicionada hacia un lugar previamente asociado con las propiedades recompensantes de las drogas (Contreras y cols. 2007, 2012), efecto producido por el bloqueo de la asociación entre la percepción de las señales intero- y exteroceptivas de las drogas, un procesamiento mediado por la CI (Contreras y cols. 2012).

Por otra parte, dado que la CI también es la zona cortical donde se produce la integración de la información visceral y gustativa (Duque y cols. 2004; Palma e Iriarte, 2012), se podría especular con la idea de que la inactivación de la CI también podría impedir la adquisición y la memoria de un modelo de aprendizaje apetitivo gustativo (AApG), donde el sujeto establece una asociación entre un estímulo condicionado gustativo (EC; p.ej. extracto de fresa o coco) y un estímulo incondicionado con propiedades recompensantes viscerales (EI; p.ej. administración intragástrica de glucosa), llegando a preferir dicho EC en base a la asociación establecida (Zafra y cols. 2002). En este sentido, existen estudios llevados a cabo con dicho modelo gustativo que muestran que la lesión de diversos componentes del sistema cerebral que procesa la información viscerogustativa (p.ej. nervio vago, núcleo del tracto solitario, parabraquial lateral externo...) consigue bloquear la adquisición del AApG (p.ej. Zafra y cols. 2002, 2017). Por lo tanto, dado que este sistema proyecta hacia la CI (De la Torre y Agüero, 2006), la lesión de esta estructura cortical podría también impedir la evocación de la memoria gustativa apetitiva.

Por ello, todas estas investigaciones aportan evidencias sobre la relevancia de la CI en la drogadicción, siendo considerada como el centro cerebral integral para el procesamiento de las propiedades recompensantes de las drogas, así como de la adquisición y evocación de los estímulos asociados con ellas (Wang y cols. 1999; Contreras y cols. 2012; Paulus y Stewart, 2014; Koob y Volkow, 2016).

En base a la literatura revisada en este apartado, el objetivo de la presente investigación será contrastar la hipótesis de que la CI es la estructura cerebral responsable de la expresión/evocación de la adquisición de un AApG. Concretamente, se evaluará si la inactivación de la CI consigue bloquear la recuperación de la preferencia gustativa condicionada con las consecuencias apetitivas viscerales. Los resultados serán discutidos en relación con el engrama de memoria responsable del *craving* inducido por los estímulos asociados a las propiedades recompensantes de las drogas, para intentar proponer un posible tratamiento preventivo para las recaídas sufridas por personas que se encuentran bajo un programa de desintoxicación.

2. Materiales y métodos

2.1. Sujetos

En el presente estudio se utilizaron veinte ratas de la cepa Wistar (entre unos 280-310 g de peso al comienzo del experimento) procedentes del Animalario de la Universidad de Jaén. Los animales fueron asignados, de manera aleatoria, a 2 grupos: diez sujetos al grupo donde se inactiva la CI con lidocaína (grupo experimental) y los diez sujetos restantes al grupo control. Los animales estaban alojados individualmente en jaulas de metacrilato cuyas dimensiones son 30×15×30cm, utilizadas en la fase de entrenamiento y en la fase experimental, con los lados negros opacos y la parte del reverso y el anverso transparentes. El compartimento presentaba dos agujeros de 1.6cm de diámetro a la misma altura y distancia de los bordes y del centro, a través de los cuales el animal tenía acceso a buretas cilíndricas graduadas que contenían los sabores. Los periodos de luz/oscuridad fueron de 12 horas cada uno, realizando el proceso de manipulación en condiciones de luz (día), manteniendo la temperatura estable entre 21-23°C. Los 3 primeros días se reservaron para que los animales se adaptaran a sus compartimentos, con libre acceso a agua y comida. Todos los procedimientos quirúrgicos y comportamentales estaban regidos por las pautas de uso y cuidado de animales decretadas por la Directiva del

Consejo de la Comunidad Europea (86/609 / CEE) y la legislación española vigente (Real Ley 1201/2005).

2.2. Procedimientos quirúrgicos

2.2.1. Implantación de 2 catéteres intragástricos

Se implantaron dos catéteres intragástricos siguiendo el procedimiento realizado previamente por Zafra y cols. (2002). Se realizó una incisión de aproximadamente 3 cm a lo largo de la línea media de la pared abdominal (Marini, 2017) bajo anestesia general con pentotal sódico administrado intraperitonealmente (50 mg/Kg; ABBOTT Laboratories, Madrid) para extraer el estómago de la cavidad abdominal con sumo cuidado utilizando pinzas blunt (16 cm; Swiss Precision Instruments, Garden Grove, CA, USA). Posteriormente, se le realizó una pequeña incisión (2mm) en la superficie ventral del cardias del estómago y se le insertó dos tubos de silastic los cuales presentaban un resalte de adhesivo quirúrgico (Solyplast, Barcelona, España) en el extremo para evitar su desprendimiento del estómago después del cierre de la incisión (Arnedo y cols. 1990). Los catéteres salientes del estómago se encauzaron por la pared del músculo abdominal y se colocaron bajo la piel, con cada catéter saliendo a cada lado del animal por la parte posterior del cuello. En la parte final de los catéteres se aplicó silicona para evitar que éstos se desplazaran y además se les puso una tapa para evitar las posibles fugas intragástricas. Las incisiones realizadas en el tejido estomacal se suturaron rodeando el catéter y para asegurar que los catéteres no se movieran se anclaron al estómago haciendo un punto de sutura entre ellos, colocando cuidadosamente el estómago en su lugar dentro de la cavidad gástrica. Todo el procedimiento quirúrgico de implantación de catéteres se realizó bajo los efectos de la anestesia y siempre hidratando la zona intervenida con agua destilada. El procedimiento concluye aplicándoles al animal povidona yodada (Betadine, Asta Medica, Madrid, España) en las heridas por vía tópica e inyectándole por vía intramuscular 0,1 cc de penicilina (1.000.000 IU; Penilevel Retard, Lab., Barcelona, España) como método profiláctico para prevenir posibles infecciones. Este mismo procedimiento se llevó a cabo para realizar las intervenciones quirúrgicas de implantación de los catéteres intragástricos en el grupo control. Los animales regresaron a su jaula para recuperarse de la operación durante al menos ocho días con comida y agua ad libitum.

2.2.2. Implantación de 2 cánulas intracerebrales

Las ratas fueron anestesiadas como se describe en Taylor y cols. (2009), con una combinación de Ketamina/Xilacina/acepromacina (60.6mg/kg; 0,6mg/kg; 6,67mg/kg, respectivamente), por vía subcutánea. Se comprobó que el animal estuviese en un estado profundo de anestesia midiendo reflejos oculares, movimiento de bigotes, tipo de respiración, cianosis y respuesta nociceptiva flexora al pinchar, de manera suave, la planta del pie del animal; además, se protegieron los ojos de la rata de la deshidratación y del daño por la aplicación de un ungüento oftálmico. Una vez anestesiado, se fijó el animal en el aparato estereotáxico y se rasuró el pelo para proceder a la incisión parasagital del cuero cabelludo quedando expuesto el cráneo para la localización de bregma. Posteriormente, se llevó a cabo la implantación bilateral de las cánulas en las coordenadas definidas para la CI basadas en el atlas neuroanatómico de Paxinos y Watson (1986): anteroposterior (AP)= +1,2 mm; mediolateral (ML)= $\pm 5,5$ mm; dorsoventral (DV)= +6,5 mm. Las cánulas se fijaron al cráneo a través de tres tornillos de acero inoxidable fijados al hueso y se cubrieron con cemento dental. Las cánulas se mantuvieron bloqueadas por un obturador de acero inoxidable, los cuales son dispositivos de metal que van insertos en las cánulas para evitar la infección del medio interno del animal. Tras este paso se cerró la herida con puntos de sutura y se limpió la herida con povidona yodada (Betadine, Asta Medica, Madrid, España).

Todo el material utilizado para la implantación de las cánulas intracerebrales, tanto las cánulas en sí como los tornillos, fueron esterilizados con una solución de alcohol al 70% durante 24 horas, siendo aclarados con una solución salina estéril minutos antes de colocarlos en el animal. Tras haber finalizado la cirugía, los animales recibieron una administración subcutánea de un anti-inflamatorio (Ketoprofeno, 12 mg/kg) y se mantuvieron en observación durante 48 horas, para luego ser llevados a una sala para su recuperación postoperatoria durante 7 días donde tenían disponible comida y agua ad libitum.

2.3. Procedimiento experimental

El procedimiento experimental comenzó 9 días después de la cirugía, tras la recuperación post-operatoria. A continuación, los animales fueron sometidos a un periodo de pre-entrenamiento, concretamente de tres días, en los cuales se limitó la ingesta de agua a 10 minutos y se alternó la posición de los orificios de la bureta de agua: el día 1 la bureta de agua

estaba a la derecha, el día dos a la izquierda y el día 3 una a la derecha y otra a la izquierda; todo esto para evitar los posibles efectos de preferencia por las posiciones de las buretas.

Tras este periodo de pre-entrenamiento, dio comienzo la fase experimental propiamente dicha durante los días 1-5 del procedimiento experimental (Figura 1). En esta fase experimental, durante 5 días consecutivos se les proporcionaba a los animales dos buretas graduadas de 0.1 cc que contenían dos sabores diferentes: fresa (F) y coco (C) (0.5% de extracto diluido en agua, McCormick Co. Inc., San Francisco, CA, USA). Las buretas eran ofrecidas de manera simultánea y en una posición invariante para cada animal durante todo el experimento (F a la izquierda y C a la derecha). Se limitó el tiempo de exposición de las buretas en los ensayos a 7 minutos, para minimizar la participación de factores post-absorbentes. La ingesta de uno de los sabores se asoció con la administración simultánea, a través de los catéteres intragástricos, de glucosa (10%), mientras que el consumo del otro sabor se emparejó con la administración intragástrica de suero fisiológico (SF), contrabalanceándose el estímulo gustativo asociado con cada condición para eliminar posibles efectos inespecíficos de preferencia por alguno de los 2 sabores (Mediavilla y cols. 2000). Tanto la glucosa como el SF se administraron a través de los catéteres intragástricos simultáneamente a la ingesta del estímulo gustativo a una tasa de 1 mL/1 mL del sabor ingerido a través de una bomba de infusión Mod. A-98 (Razel, USA). Tras cada ensayo de 7 minutos se retiraron las buretas y se registró la ingesta de cada uno de los sabores.

El sexto día tras esta fase adquisitiva, se llevó a cabo la prueba donde se les ofrece a los animales de nuevo las 2 buretas pero esta vez sin administración intragástrica alguna, con el objetivo de examinar la expresión/evocación del AApG adquirido previamente (Prueba 1). Para evaluar la implicación de la CI en la expresión de este aprendizaje, se indujo la inactivación bilateral de la CI en el grupo experimental con la administración de lidocaína (2mg/ml; AstraZeneCAI, Sodertalje, Suecia) a través de las 2 cánulas intracerebrales previamente implantadas. Dicha administración se llevó a cabo con una jeringa de 10 µl (Hamilton, 23S GA, USA) a una razón de 10 µl/seg. a través de una bomba de infusión (Miniplus, Gilson, USA) hasta alcanzar una dosis de 20µl. Se realizó el mismo procedimiento para el grupo control pero esta vez con la administración de SF a través de las 2 cánulas intracerebrales. Por último, el día siguiente (séptimo día experimental), se volvió a realizar otra prueba (Prueba 2) para examinar la expresión del AApG, pero esta vez sin administración intragástrica ni intracerebral alguna, con el objetivo de examinar si con la CI intacta los animales del grupo experimental evocaban de nuevo la adquisición de la información.

Animales	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
50%	F (IZQ) + Glc y C (DCH) + SF	= Día 1	= Día 1	= Día 1	= Día 1
50%	F (IZQ) + SF y C (DCH) + Glc	= Día 1	= Día 1	= Día 1	= Día 1

Fig. 1. Diagrama que representa las condiciones experimentales equilibradas en la tarea AAPG concurrente en los 5 días de adquisición tanto para el GC como para el GE. AAPG = aprendizaje aversivo gustativo; GC = grupo control; GE = grupo experimental; F = fresa; C = coco; Glc = Glucosa; SF = suero fisiológico.

2.4. Histología

Al finalizar el experimento, los animales del grupo experimental fueron profundamente anestesiados con una sobredosis de pentotal sódico (80 mg/Kg, ABBOTT, Madrid, España) y perfundido por vía intracardiaca con una solución salina isotónica seguida de formaldehído al 10% (Formaldehído, Probus, Badalona, España). Posteriormente, se extrajo el cerebro de cada uno de ellos y se almacenó en formaldehído (10%) durante al menos una semana, tras la cual se procedió a su laminación con un criostato (Leica, CM1850 UV, USA) en secciones de 40µm. Posteriormente, se colocaron las secciones en los portaobjetos, se tiñeron con violeta de cresilo y se observaron a través de un microscopio óptico (UMZ-4F; Olympus, Tokio, Japón) para ser microfotografiadas con el objetivo de comprobar si las cánulas estaban localizadas en la zona objetivo (Figura 2).

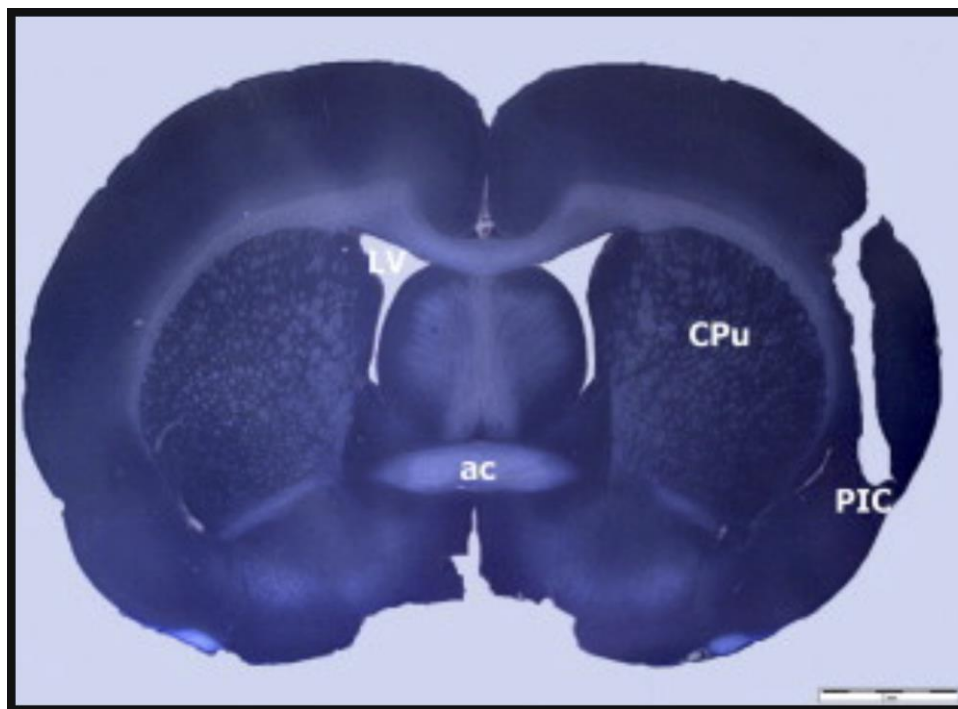


Fig. 2. Imagen de una sección coronal del cerebro de un animal del Grupo Experimental, mostrando la localización de la cánula intracerebral. Abreviaciones: ac: comisura anterior; PIC: Corteza Insular Posterior; PuC: Núcleo Putamen-Caudado; LV: Ventrículo Lateral.

2.5. Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico se ha usado la versión 26.0 de SPSS. La media de ingesta de agua durante los 3 días de pre-entrenamiento y la media de la ingesta de los sabores durante los 7 días experimentales fueron analizados mediante un ANOVA (Grupo x Días x Agua y Grupo x Días x Sabores, respectivamente). Los valores fueron expresados como medias $\pm$ el error estándar de medida. Los efectos significativos fueron analizados mediante pruebas pos hoc a través de un test de Tuckey y las diferencias estadísticamente significativas se fijó en el nivel del 5% ($p < 0.5$).

3. Resultados

El ANOVA llevado a cabo en la Etapa I (pre-entrenamiento de 3 días) no mostró diferencias entre los animales del grupo experimental y grupo control con respecto a la cantidad de agua consumida a lo largo de esta etapa (datos no mostrados).

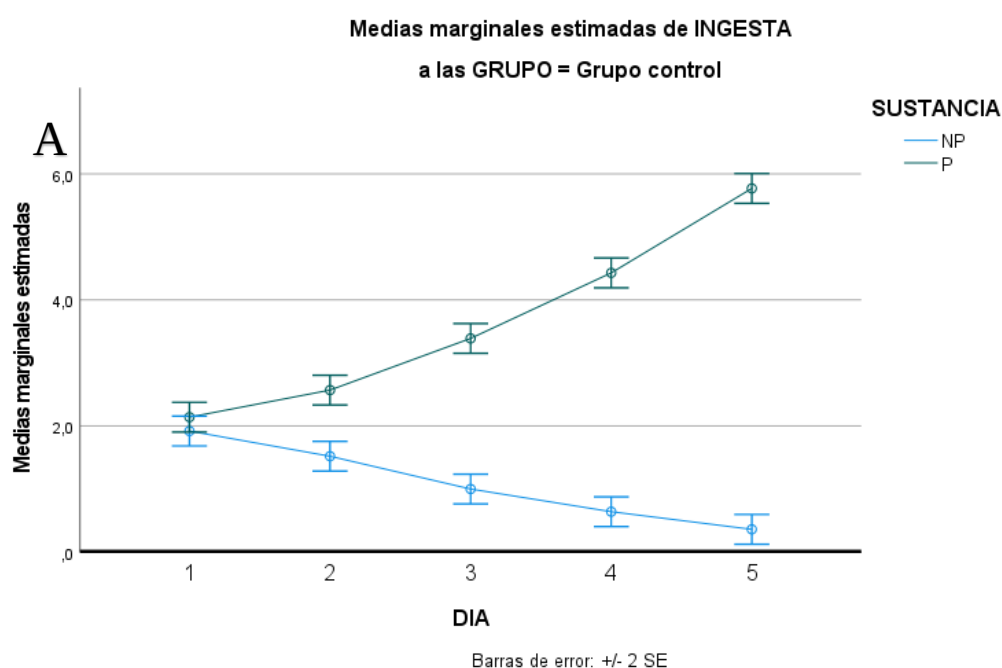
Por otra parte, el ANOVA realizado en los días propiamente experimentales (Día 1-7) reveló un efecto significativo de Grupo x Sustancias [$F(1, 280) = 115,573$; $p < .001$], de Día x

Sustancias [$F(6, 280) = 352,662$; $p < .001$] y de Grupo x Días x Sustancias [$F(6, 280) = 80,076$; $p < .001$].

Con respecto a la Etapa II (fase de adquisición; días 1 al 5), el análisis post hoc de Días x Sustancias mostró diferencias significativas a partir del segundo día adquisitivo del AAPG concurrentes, tanto en el grupo control (Figura 3A; Día 2, $p < .001$; Día 3, $p < .001$; Día 4, $p < .001$; Día 5, $p < .001$) como en el grupo experimental (Figura 4A; Día 2, $p < .001$; Día 3, $p < .001$; Día 4, $p < .001$; Día 5, $p < .001$).

Por otro lado, el análisis post hoc de la ingesta media de los sabores en la Etapa III (prueba de discriminación de sabor; test 1; día 6) mostró que existen diferencias significativas en el grupo control ($p < .001$) (Figura 3B) mientras que no se observan dichas diferencias en el grupo experimental ($p < .978$), mostrando así que el grupo experimental presumiblemente no expresa el recuerdo del AAPG (Figura 4B).

Finalmente, el análisis post hoc llevado a cabo en la Etapa IV (prueba de discriminación sin administración intracerebral alguna, test 2; día 7) mostró que ambos grupos presentaban un proceso discriminante dado que en ambos grupos existen diferencias significativas en la ingesta de los dos sabores experimental ($p < .001$), (Figura 3B y 4B).



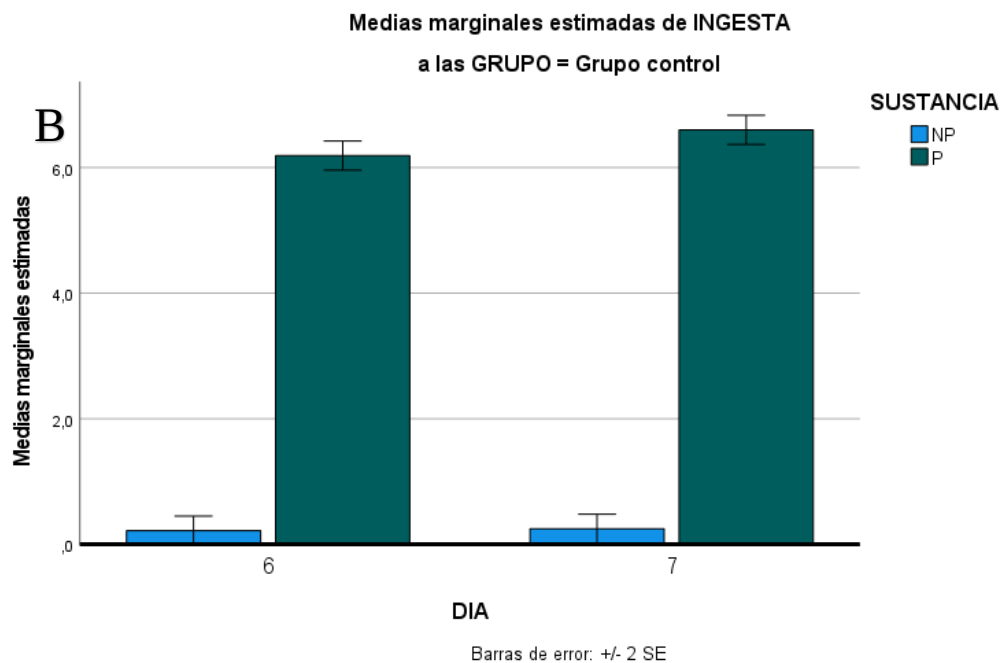
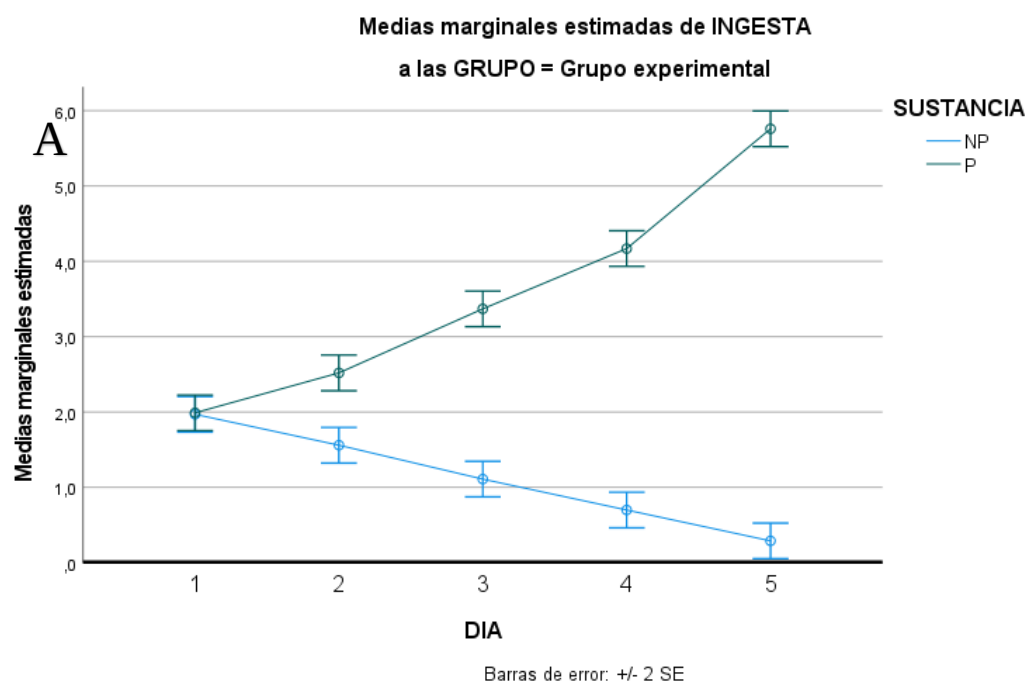


Fig. 3: Ingesta media (ml) del aroma asociado a suero fisiológico (No Pareado; NP) o Glucosa (Pareado; P) por el grupo control durante los cinco días de entrenamiento (3A) y durante las pruebas concurrentes de AApG, día 6 y 7 (test 1 y test 2) (3B).



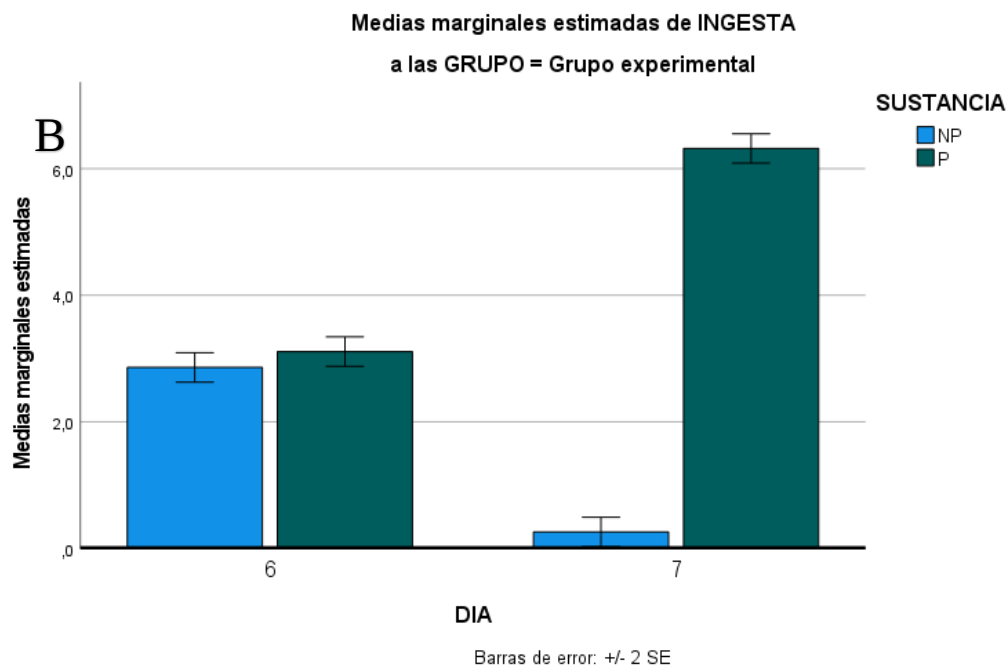


Fig. 4: Ingesta media (ml) del aroma asociado a suero fisiológico (NP) o Glucosa (P) por el grupo control durante los cinco días de entrenamiento (4A) y durante las pruebas concurrentes de AApG, día 6 y 7 (test 1 y test 2) (4B).

4. Discusión

Este estudio muestra que la inactivación de la CI bloquea la evocación de un AApG previamente adquirido, como se observa en el grupo experimental el día 6, ya que no aparecen diferencias significativas en la ingesta de sustancias y, sin embargo, previamente se veía que si se había adquirido un aprendizaje, se había producido un proceso discriminativo (Figura 4A y 4B).

Se conoce que la CI está implicada en el procesamiento de las propiedades recompensantes, tanto de estímulos naturales tales como la comida (Glass y cols. 1999; Palma e Iriarte, 2012), bebida (Ågmo y cols. 1995; O'Hare y cols. 1997) o el sexo (Ågmo y Berenfeld, 1990; Craig, 2002), y de estímulos artificiales como drogas (Reid y cols. 1996), estimulación eléctrica y condiciones experimentales.

Más aún, diversas investigaciones apuestan por otros paradigmas de aprendizaje, como el condicionamiento de preferencia del lugar (CPL) demostrando que la administración de lidocaína para inactivar de manera reversible la CI tras haber adquirido una preferencia (compartimento blanco o negro), bloquea la evocación de la preferencia por el compartimento

emparejado y cuando se revierte el efecto de la lidocaína las ratas vuelven a elegir el compartimento asociado a la anfetaminas (Contreras y cols. 2007).

A su vez, en humanos se realizó un estudio sobre la adicción al tabaco en la cual se demuestra que personas con una lesión en la CI presentan mayor probabilidad de dejar de fumar, que las personas que no presentaban dicha lesión, demostrando así que la ínsula anticipa el placer de la droga, en este caso del tabaco y su daño bloquea el recuerdo del placer o de *craving* (Naqvi y cols. 2007; Pushparaj y cols. 2013).

Sin embargo, se ha visto que la inactivación de una parte específica de la CI, concretamente de la parte anterior, no está relacionada con una reducción en el consumo de cocaína, en este caso, ya que el número de presiones de palanca que permitía la obtención de la cocaína, no era interrumpida tras la inactivación de dicha área específica con lidocaína, independientemente de la señal contextual, solo fue necesaria la asociación del olor a cocaína y una señal lumínica para contrarrestar los efectos de la lidocaína, es decir de la inactivación de la CI (Di Pietro y cols. 2006). Esta disonancia entre resultados puede deberse a que, la parte anterior de la CI esté implicada en menor medida en la evocación del aprendizaje.

Por otro lado, otra investigación demuestra que no se observan cambios en la capacidad de las ratas para adquirir un emparejamiento entre los estímulos orosensoriales y la información viscerosensorial inducida por la administración de maltodextrina (Touzani y Sclafani, 2007). En este caso, la diferencia entre ambos estudios es que Touzani y Sclafani (2007) se centran en los efectos de dicha inactivación de la CI en la adquisición del aprendizaje y el presente estudio se centra en la evocación de dicho aprendizaje. Cabe destacar que hay investigaciones que muestran que la inactivación de la CI solo bloqueaba la adquisición del condicionamiento de aversión al lugar (CAL) inducido por la administración de naloxona, pero no bloqueaba el CPL inducido por morfina (Li y cols. 2013).

Estos datos están relacionados con otras investigaciones que han visto la implicación o la relevancia de los factores interoceptivos con respecto a la drogadicción, por ejemplo, el *craving* es un ejemplo del papel de la CI en la interocepción (Garavan, 2010), por lo tanto, se puede inducir que, al ver una señal previamente relacionada con el consumo de drogas, generará en ella una respuesta de necesidad de consumirla (Paulus y Stewart, 2014). El papel de la CI, además está respaldado por estudios de neuroimagen que muestran la activación de esta en

personas adictas a alguna droga y más concretamente que presentan una necesidad de consumirla inducida por señales (Garavan y cols. 2000), ya que con el tiempo y a medida que la adicción aumenta, estos estímulos asociados al consumo de drogas se convierten en unos poderosos incentivos, desencadenando procesos como el aumento del consumo o una recaída (Naqvi y Bechara, 2009). Dada la información recabada, se infiere que la inactivación de la CI produzca un bloqueo de la evocación de la asociación entre los factores que acompañan al consumo y la droga, per se, revirtiendo el aprendizaje.

Se ha observado que la CI presenta una gran densidad de receptores opiáceos (Mansour y cols. 1995; Svingos y cols. 1995; Burkey y cols. 1996; Izenwasser y cols. 1999), por tanto, la administración de antagonistas opioides (naloxona, naltrexona...) puede bloquear los efectos gratificantes de la estimulación de la CI. En consecuencia de ello, diversas investigaciones corroboran que mediante la administración de antagonistas opioides, tras haber adquirido un AApG concurrente puede bloquear la preferencia asociada a sustancias nutritivas en ratas con 6 días de edad (Shide y Blass, 1991) o a estimulación eléctrica (Cubero y Puerto, 2000; Roth y Sullivan, 2003; García y cols. 2015) o en el caso de haber adquirido un Aprendizaje aversivo gustativo (AAvG) concurrente, puede bloquear la aversión del lugar asociado al NaCl hipertónico (Agüera y cols. 2016).

En virtud de ello, se han realizado estudios que consideran a la CI como una región clave en la drogadicción, concretamente en el *craving* involucrado en el proceso de recaída (Izenwasser y cols. 1999; Naqvi y cols. 2007; Contreras y cols. 2007; Contreras y cols. 2012; Drouzman y cols. 2015) corroboran que los antagonistas opiáceos bloquean la preferencia del lugar inducido por morfina (Manzanedo y cols. 2001; Wang y cols. 2016), etanol (Matsuzawa y cols. 1999; Nizhnikov y cols. 2006a, 2006b; Nizhnikov y cols. 2009), nicotina (Forget y cols. 2010; Moran y cols. 2018) y cocaína (Bilsky y cols. 1992; Mitchem y cols. 1999).

Esto sugiere que la manipulación de la CI podría consolidarse como un novedoso y efectivo tratamiento terapéutico para la prevención de la recaída en la drogadicción actuando sobre la excitabilidad de dicha zona mediante estimulación magnética transcraneal (Daskalakis y cols. 2006; Baltramonaityte, 2020).

Referencias bibliográficas

- Abdolahi, A., Williams, G. C., Benesch, C. G., Wang, H. Z., Spitzer, E. M., Scott, B. E., ... y van Wijnngaarden, E. (2017). Immediate and sustained decrease in smoking urges after acute insular cortex damage. *Nicotine & Tobacco Research*, 19(6), 756-762.
- Ågmo, A., y Berenfeld, R. (1990). Reinforcing properties of ejaculation in the male rat: role of opioids and dopamine. *Behavioral neuroscience*, 104(1), 177.
- Agmo, A., Galvan, A., y Talamantes, B. (1995). Reward and reinforcement produced by drinking sucrose: two processes that may depend on different neurotransmitters. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 52(2), 403–414.
- Agüera, A. D., Bernal, A., y Puerto, A. (2016). Naloxone impairs concurrent but not sequential flavor aversion: Resorting to a flexible/explicit learning. *Behavioral neuroscience*, 130(1), 19.
- Arnedo, M., Gallo, M., Agüero, A., y Puerto, A. (1990). Effects of medullary afferent vagal axotomy and area postrema lesions on short-term and long-term NaCl-induced taste aversion learning. *Physiology & Behavior*, 47(6), 1067–1074.
- Baker, T. B., Piper, M. E., McCarthy, D. E., Majeskie, M. R., y Fiore, M. C. (2004). Addiction motivation reformulated: an affective processing model of negative reinforcement. *Psychological review*, 111(1), 33.
- Baltramonaityte, V. (2020). *Estableciendo la excitabilidad cortical asociada al aprendizaje inhibitorio mediante el uso de TMS*. Universitat Oberta de Catalunya (UOC).
- Beck, A. T., Wright, F. D., Newman, C. F., y Liese, B. S. (1999). *Terapia cognitiva de las drogodependencias*. Barcelona: Paidós.
- Bilsky, E. J., Montegut, M. J., DeLong, C. L., y Reid, L. D. (1992). Opioidergic modulation of cocaine conditioned place preferences. *Life Sciences*, 50(14), PL85-90.

- Bonson, K. R., Grant, S. J., Contoreggi, C. S., Links, J. M., Metcalfe, J., Weyl, H. L., Kurian, V., Ernst, M., y London, E. D. (2002). Neural systems and cue-induced cocaine craving. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 26(3), 376–386.
- Burkey, A. R., Carstens, E., Wenniger, J. J., Tang, J., y Jasmin, L. (1996). An opioidergic cortical antinociception triggering site in the agranular insular cortex of the rat that contributes to morphine antinociception. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(20), 6612–6623.
- Carleton, A., Accolla, R., y Simon, S. A. (2010). Coding in the mammalian gustatory system. *Trends in Neurosciences*, 33(7), 326–334.
- Castillo, I. I., y Bilbao, N. C. (2008). Craving: concepto, medición y terapéutica. *Norte de Salud Mental*, 7(32), 9–22.
- Contreras, M., Billeke, P., Vicencio, S., Madrid, C., Perdomo, G., González, M., y Torrealba, F. (2012). A role for the insular cortex in long-term memory for context-evoked drug craving in rats. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 37(9), 2101–2108.
- Contreras, M., Ceric, F., y Torrealba, F. (2007). Inactivation of the interoceptive insula disrupts drug craving and malaise induced by lithium. *Science (New York, N.Y.)*, 318(5850), 655–658.
- Contreras, M., Ceric, F., y Torrealba, F. (2008). El lado negativo de las emociones: la adicción a drogas de abuso. *Rev Neurol*, 47(9), 471-476.
- Craig, A. D. (2002). How do you feel? Interoception: the sense of the physiological condition of the body. *Nature Reviews. Neuroscience*, 3(8), 655–666.
- Cubero, I., y Puerto, A. (2000). Electrical stimulation of the insular cortex induces flavor-preferences in rats. *Brain Research*, 872(1–2), 134–140.

- Daskalakis, Z. J., Möller, B., Christensen, B. K., Fitzgerald, P. B., Gunraj, C., y Chen, R. (2006). The effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on cortical inhibition in healthy human subjects. *Experimental Brain Research*, 174(3), 403–412.
- de la Torre Vacas, L., y Agüero Zapata, Á. (2006). Bases neurales del aprendizaje aversivo gustativo: formación de las representaciones gustativas hedónicas adquiridas. *Revista de neurologia*, 43(01), 25.
- Di Pietro, N. C., Black, Y. D., y Kantak, K. M. (2006). Context-dependent prefrontal cortex regulation of cocaine self-administration and reinstatement behaviors in rats. *The European Journal of Neuroscience*, 24(11), 3285–3298.
- Droutman, V., Read, S. J., y Bechara, A. (2015). Revisiting the role of the insula in addiction. *Trends in Cognitive Sciences*, 19(7), 414–420.
- Duque, J. E., Moscoso, Ó. H., y Cubillos, A. D. (2004). El lóbulo insular. *Acta Neurol Colomb*, 20(2).
- Forget, B., Pushparaj, A., y Le Foll, B. (2010). Granular insular cortex inactivation as a novel therapeutic strategy for nicotine addiction. *Biological Psychiatry*, 68(3), 265–271.
- Garavan, H., Pankiewicz, J., Bloom, A., Cho, J. K., Sperry, L., Ross, T. J., Salmeron, B. J., Risinger, R., Kelley, D., y Stein, E. A. (2000). Cue-induced cocaine craving: neuroanatomical specificity for drug users and drug stimuli. *The American Journal of Psychiatry*, 157(11), 1789–1798.
- Garavan, Hugh. (2010). Insula and drug cravings. *Brain Structure & Function*, 214(5–6), 593–601.
- García, R., Zafra, M. A., y Puerto, A. (2015). Rewarding effects of electrical stimulation of the insular cortex: decayed effectiveness after repeated tests and subsequent increase in vertical behavioral activity and conditioned place aversion after naloxone administration. *Neurobiology of Learning and Memory*, 118, 64–73.

- Glass, M. J., Billington, C. J., y Levine, A. S. (1999). Opioids and food intake: distributed functional neural pathways? *Neuropeptides*, 33(5), 360–368.
- Goldstein, R. Z., y Volkow, N. D. (2002). Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *The American Journal of Psychiatry*, 159(10), 1642–1652.
- González, J. M. M., y García, A. V. (2011). Creencias básicas adictivas y craving. *Adicciones*, 23(1), 45-52.
- Izenwasser, S., Staley, J. K., Cohn, S., y Mash, D. C. (1999). Characterization of kappa1-opioid receptor binding in human insular cortex. *Life Sciences*, 65(9), 857–862.
- Koob, G. F., y Volkow, N. D. (2016). Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *The Lancet. Psychiatry*, 3(8), 760–773.
- Kurth, F., Zilles, K., Fox, P. T., Laird, A. R., y Eickhoff, S. B. (2010). A link between the systems: functional differentiation and integration within the human insula revealed by meta-analysis. *Brain Structure & Function*, 214(5–6), 519–534.
- Li, C.-L., Zhu, N., Meng, X.-L., Li, Y.-H., y Sui, N. (2013). Effects of inactivating the agranular or granular insular cortex on the acquisition of the morphine-induced conditioned place preference and naloxone-precipitated conditioned place aversion in rats. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 27(9), 837–844.
- Mansour, A., Fox, C. A., Akil, H., y Watson, S. J. (1995). Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *Trends in Neurosciences*, 18(1), 22–29.
- Manzanedo, C., Serrano, A., Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., y Miñarro, J. (2001). Effects of CGS 10746B on hyperactivity and place preference induced by morphine. *Behavioural Brain Research*, 126(1–2), 23–32.

- Matsuzawa, S., Suzuki, T., Misawa, M., y Nagase, H. (1999). Different roles of μ -, δ -and κ -opioid receptors in ethanol-associated place preference in rats exposed to conditioned fear stress. *European journal of pharmacology*, 368(1), 9-16.
- Marini, M. L. (2017). *Importancia de la Historia Clínica y la Laparotomía exploratoria en la Obstrucción intestinal*. Universidad Nacional de Río Negro.
- Mediavilla, C., Molina, F., y Puerto, A. (2000). The role of the lateral parabrachial nuclei in concurrent and sequential taste aversion learning in rats. *Experimental Brain Research*, 134(4), 497–505.
- Mitchem, L. D., Kruschel, C. K., Dallman, E., Anders, K. A., Czapiga, M., Panos, J. J., y Steinpreis, R. E. (1999). The effects of the naltrexone implant on rodent social interactions and cocaine-induced conditioned place preference. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 62(1), 97–102.
- Moran, L., Phillips, K. A., Kowalczyk, W. J., Ghitza, U., Epstein, D. H., y Preston, K. L. (2017). Cue-induced cocaine craving increases with aripiprazole treatment in methadone-maintenance patients. *Drug and Alcohol Dependence*, 171(171), e148–e149.
- Moran, L. V., Stoeckel, L. E., Wang, K., Caine, C. E., Villafuerte, R., Calderon, V., Baker, J. T., Ongur, D., Janes, A. C., Pizzagalli, D. A., y Evins, A. E. (2018). Nicotine increases activation to anticipatory valence cues in anterior insula and striatum. *Nicotine & Tobacco Research: Official Journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*, 20(7), 851–858.
- Naqvi, N. H., y Bechara, A. (2009). The hidden island of addiction: the insula. *Trends in Neurosciences*, 32(1), 56–67.
- Naqvi, N. H., Gaznick, N., Tranel, D., y Bechara, A. (2014). The insula: a critical neural substrate for craving and drug seeking under conflict and risk. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1316, 53–70.

- Naqvi, N. H., Rudrauf, D., Damasio, H., y Bechara, A. (2007). Damage to the insula disrupts addiction to cigarette smoking. *Science (New York, N.Y.)*, 315(5811), 531–534.
- Nizhnikov, M. E., Pautassi, R. M., Truxell, E., y Spear, N. E. (2009). Opioid antagonists block the acquisition of ethanol-mediated conditioned tactile preference in infant rats. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 43(5), 347–358.
- Nizhnikov, M. E., Varlinskaya, E. I., Petrov, E. S., y Spear, N. E. (2006). Reinforcing properties of ethanol in neonatal rats: Involvement of the opioid system. *Behavioral neuroscience*, 120(2), 267.
- Nizhnikov, M. E., Varlinskaya, E. I., y Spear, N. E. (2006). Reinforcing effects of central ethanol injections in newborn rat pups. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 30(12), 2089-2096.
- O'Hare, E. O., Cleary, J., Bartz, P. J., Weldon, D. T., Billington, C. J., y Levine, A. S. (1997). Naloxone administration following operant training of sucrose/water discrimination in the rat. *Psychopharmacology*, 129(3), 289–294.
- Palma, J.-A., y Iriarte, J. (2012). Regulación del apetito: bases neuroendocrinas e implicaciones clínicas. *Medicina clinica*, 139(2), 70–75.
- Paulus, M. P., y Stewart, J. L. (2014). Interoception and drug addiction. *Neuropharmacology*, 76 Pt B, 342–350.
- Paxinos, G., y Watson, C. (1986). The rat brain in stereotaxic coordinates, 1986. *Orlando, FL: Academic*.
- Pushparaj, A., Hamani, C., Yu, W., Shin, D. S., Kang, B., Nobrega, J. N., y Le Foll, B. (2013). Electrical stimulation of the insular region attenuates nicotine-taking and nicotine-seeking behaviors. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 38(4), 690–698.

- Reid, L. D., Gardell, L. R., Chattopadhyay, S., y Hubbell, C. L. (1996). Periodic naltrexone and propensity to take alcoholic beverage. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 20(8), 1329–1334.
- Roth, T. L., y Sullivan, R. M. (2003). Consolidation and expression of a shock-induced odor preference in rat pups is facilitated by opioids. *Physiology & Behavior*, 78(1), 135–142.
- Shide, D. J., y Blass, E. M. (1991). Opioid mediation of odor preferences induced by sugar and fat in 6-day-old rats. *Physiology & Behavior*, 50(5), 961–966.
- Svingos, A. L., Cheng, P. Y., Clarke, C. L., y Pickel, V. M. (1995). Ultrastructural localization of δ -opioid receptor and Met5-enkephalin immunoreactivity in rat insular cortex. *Brain Research*, 700(1–2), 25–39.
- Taylor, B. J., Orr, S. A., Chapman, J. L., y Fisher, D. E. (2009). Beyond-use dating of extemporaneously compounded ketamine, acepromazine, and xylazine: safety, stability, and efficacy over time. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*, 48(6), 718–726.
- Tiffany, S. T., Carter, B. L., y Singleton, E. G. (2000). Challenges in the manipulation, assessment and interpretation of craving relevant variables. *Addiction (Abingdon, England)*, 95(8s2), 177–187.
- Tiffany, S. T., y Wray, J. M. (2012). The clinical significance of drug craving: Tiffany & Wray. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1248(1), 1–17.
- Touzani, K., y Sclafani, A. (2007). Insular cortex lesions fail to block flavor and taste preference learning in rats: Insular cortex and flavor conditioning. *The European Journal of Neuroscience*, 26(6), 1692–1700.
- Wang, F., Jing, X., Yang, J., Wang, H., Xiang, R., Han, W., Liu, X., y Wu, C. (2016). The role of the insular cortex in naloxone-induced conditioned place aversion in morphine-dependent mice. *Physiological Research*, 65(4), 701–709.

- Wang, G. J., Volkow, N. D., Fowler, J. S., Cervany, P., Hitzemann, R. J., Pappas, N. R., Wong, C. T., y Felder, C. (1999). Regional brain metabolic activation during craving elicited by recall of previous drug experiences. *Life Sciences*, 64(9), 775–784.
- Zafra, M. A., Simón, M. J., Molina, F., y Puerto, A. (2002). The role of the external lateral parabrachial subnucleus in flavor preferences induced by predigested food administered intragastrically. *Brain Research*, 950(1–2), 155–164.
- Zafra, María A., Agüera, A. D., Molina, F., y Puerto, A. (2017). Relevance of the nucleus of the solitary tract, gelatinous part, in learned preferences induced by intragastric nutrient administration. *Appetite*, 118, 90–96.