

Condicionamiento de preferencia de lugar: un modelo animal para evaluar las propiedades motivacionales de las drogas

Conditioned place preference: an animal model of motivational properties of drugs

Concepción Roger Sánchez, María Pilar García Pardo y María Asunción Aguilar Calpe

Universitat de Valencia, España.

Disponible online 31 de agosto de 2016

En el presente trabajo mostramos la técnica del condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) como un modelo útil en el estudio de las propiedades motivacionales de las drogas. Se presentan los antecedentes de la técnica y se discuten algunas cuestiones metodológicas que es necesario considerar para diseñar una investigación empleando el modelo de CPL, como los diferentes tipos de aparatos disponibles, las diferentes fases del protocolo y sus posibles variaciones, el tipo de diseño (sesgado vs. no sesgado) o la necesidad de considerar los efectos del tiempo. Posteriormente se discuten algunas cuestiones a tener en cuenta a la hora de interpretar los datos obtenidos, como qué es lo que aprende el animal, la presentación de la variable dependiente, la influencia de la novedad, el aprendizaje dependiente de estado, la inhibición latente, los efectos motores y cognitivos de las drogas o la comparación con los datos provenientes del modelo de la autoadministración de drogas. Se exponen las principales aplicaciones, ventajas y limitaciones de la técnica y se finaliza con algunas propuestas para superar las principales críticas que ha recibido este modelo.

Palabras Clave: recompensa, refuerzo, condicionamiento, preferencia, CPL, aprendizaje.

This article investigated the Conditioned Place Preference (CPP) technique as a useful model for studying the motivational properties of drugs of abuse. The background of the technique is presented. Methodological issues that need to be considered when designing a study using CPP are discussed. These issues include the different types of apparatus available, the different phases of the protocol and its possible variations, the type of design (biased vs unbiased), and the need to consider time effects. We discuss data interpretation issues, such what the animal learns, the presentation of the dependent variable, the influence of novelty, state-dependent learning, latent inhibition, the motor and cognitive effects of drugs, and comparison with data from the drug self-administration model. The main applications, advantages, and limitations of the technique are presented. We offer some proposals to address the main criticisms of this model.

Key Words: reward, reinforcement, conditioning, preference, CPP, learning.

Correspondencia: Concepción Roger Sánchez. Departamento de Psicobiología. Facultad de Psicología. Universidad de Valencia. Av. Blasco Ibáñez, 21. 46010 VALENCIA (España). E-mail: concepción.roger@uv.es. E-mail de la coautora María Pilar García Pardo: m.pilar.garcia-pardo@uv.es. E-mail de la coautora María Asunción Aguilar Calpe: asunción.aguilar@uv.es.

Este trabajo ha sido realizado gracias a las siguientes ayudas: Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO), Dirección General de Investigación, PSI2011-24762 y PSI2014-51847- R; Instituto de Salud Carlos III, Red de Trastornos Adictivos (RTA) RD12/0028/0005, y Unión Europea, Fondos FEDER “una manera de hacer Europa”; Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad; Delegación del Gobierno para el Plan Nacional Sobre Drogas, Proyectos de Investigación sobre Drogodependencias, 2014I007; Generalitat Valenciana, Conselleria de Educació, PROMETE-OII/2014/063, España.

El *Condicionamiento de Preferencia de Lugar* (CPL) es un protocolo experimental utilizado en animales de laboratorio, para estudiar las respuestas motivacionales hacia determinados estímulos (habitualmente drogas), midiendo las respuestas de acercamiento a un ambiente donde un evento reforzante (positivo o negativo) ha ocurrido. En un experimento típico el animal tiene acceso repetido a un estímulo apetitivo (estímulo incondicionado o EI) en un determinado contexto (estímulo condicionado o EC), y de manera intermitente se llevan a cabo exposiciones similares en otro contexto sin la presencia del EI. Después del condicionamiento, tiene lugar la prueba de elección, en la que el animal se expone sin restricciones a los dos ambientes, en ausencia del EI. Un aumento en el tiempo pasado en el contexto asociado al EI, en relación al valor control, se toma como evidencia de que el EI es recompensante (Bardo y Bevins, 2000; Tzschentke, 2007).

Los términos empleados en la literatura para referirse a aquello que se mide en el CPL incluyen: recompensa, refuerzo, arousal afectivo, potencial adictivo, consecuencias o propiedades afectivas, balance afectivo o apetitivo, acercamiento condicionado, preferencia condicionada, comportamiento de búsqueda de la droga, euforia, motivación incentiva, efectos hedónicos, propiedades motivacionales, estado afectivo positivo o naturaleza apetitiva de las drogas (Carr, Fibiger y Phillips, 1989; Schechter y Calcagnetti, 1993). No obstante, se ha señalado que al hacer referencia al CPL es preferible hablar de recompensa (reward), en lugar de reforzamiento (reinforcement), ya que el *reforzamiento* se define como cualquier contingencia experimental que incrementa la posibilidad de un comportamiento; mientras que el término *recompensa* se refiere a la naturaleza apetitiva de un estímulo dado (Bardo y Bevins, 2000).

Así, en el CPL las propiedades motivacionales primarias de un tratamiento, sirven como EI que son repetidamente asociadas a un conjunto de estímulos ambientales que adquieren, en el curso del condicionamiento, propiedades motivacionales secundarias; de tal forma que pueden actuar como EC provocando acercamiento o retirada, cuando el animal es posteriormente expuesto a estos estímulos.

Antecedentes

El estudio de la conducta animal se enmarca de manera más amplia en los planteamientos evolucionistas de Darwin, según los cuales es posible encontrar en otras especies, características análogas a las nuestras, originadas en ancestros comunes ya desaparecidos (Ruiz, Sánchez y de la Casa, 1999).

Como antecedente de esta técnica destacan los trabajos de Pavlov a finales del s. XIX, quien aporta los principios del Condicionamiento Clásico. Interesado inicialmente en las funciones digestivas y los sistemas neurológicos responsables de la salivación que provocaba la comida en los perros, encontró que los perros que había utilizado en varios experimentos, empezaban a salivar en cuanto veían la comida, por lo que esta secreción no se podía atribuir a la presentación de la

misma. Así, Pavlov redefinió los objetivos de su investigación y se interesó en los mecanismos que controlaban la salivación anticipatoria.

En su procedimiento intervenían dos estímulos importantes. El primero, un ruido o una luz que se encendía; en un primer momento podía provocar una respuesta de orientación, pero no salivación. El otro estímulo era la comida o el sabor de una solución ácida, estímulos capaces de provocar una fuerte salivación. Pavlov se refirió al tono o a la luz como *estímulo condicional* (EC), debido a que la capacidad de éste estímulo para provocar salivación dependía de que se presentara repetidamente junto con la comida. El estímulo de la comida o del sabor ácido fue denominado *estímulo incondicional* (EI) porque su capacidad de provocar salivación no dependía de que los sujetos tuvieran un entrenamiento previo. A la salivación producida por el tono o la luz se le llamó *respuesta condicional* (RC), y a la salivación producida por la comida o el sabor ácido se le llamó *respuesta incondicional* (RI).

Quizá el antecedente directo más remoto para el procedimiento de CPL, fue un estudio llevado a cabo por Spragg en 1940. En este estudio, un grupo de chimpancés recibía diariamente inyecciones de morfina. Después de convertirse en dependientes, se les entrenó a elegir entre una caja blanca con una jeringuilla con su dosis diaria de morfina y una caja negra con un plátano. Privados de la morfina, los chimpancés eligieron la caja blanca, pero cuando fueron pretratados con su dosis diaria de morfina, eligieron la caja negra (Spragg, 1940). Posteriormente Olds y Milner (1954) observaron que las ratas volvían al sitio donde habían recibido una estimulación eléctrica cerebral, lo que indicaba que dicha estimulación había sido reforzante para el animal.

El primer uso de un procedimiento similar al empleado actualmente en el CPL fue el descrito por Garcia, Kimeldorf y Hunt (1957), quienes expusieron a ratas a una radiación ionizante en un ambiente distintivo, mostrando éstas una clara aversión hacia las claves de este ambiente (Van der Kooy, 1987). En este mismo año, Beach encontró que el brazo blanco asociado a morfina de un laberinto en forma de Y, fue preferido al brazo negro (no asociado) en ratas no dependientes, indicando así que la inducción de dependencia física no era un requisito para obtener CPL (Beach, 1957).

En 1976, Rossi y Reid publicaron un estudio de preferencia condicionada de lugar inducida por morfina, en el que la duración del tiempo pasado en el contexto asociado a la morfina en relación al tiempo pasado en el contexto asociado con salino, se utilizó como índice de preferencia. Hasta la fecha, el procedimiento general descrito por Rossi y Reid ha sido adoptado de forma general, con algunas modificaciones (Bardo y Bevins, 2000; Rossi y Reid, 1976).

Cuestiones metodológicas

No hay un método único para realizar estudios de CPL. La diversidad de métodos que se utilizan es un problema importante, dado que dificulta la comparación de los datos obtenidos.

Aparatos (estímulo condicionado)

Los aparatos empleados son muy variados, pero el tipo más generalizado es el que se compone de dos compartimentos de iguales dimensiones, separados por un pasillo central, que suele utilizarse como “compartimento de salida” en los tests de elección. Los dos compartimentos difieren habitualmente en cuanto al color de las paredes y a la textura del suelo. Las puertas del pasillo central se pueden cerrar para impedir el paso de un compartimento a otro en las sesiones de condicionamiento. Los aparatos de CPL varían principalmente según:

- Número, forma y tamaño de los compartimentos.
- Color de las paredes y/o el patrón con el que se pintan (rayas, círculos, etc.)
- Textura del suelo.
- Utilización de claves olfativas.
- Existencia de pasillo central.
- Detectores de posición.

No parece ser necesaria la existencia de claves de ninguna modalidad sensorial específica, siendo posible establecer un condicionamiento de lugar con un único estímulo distintivo, aunque la mayoría de laboratorios pretenden maximizar el potencial para el aprendizaje asociativo, utilizando un complejo estimular multimodal (claves visuales, táctiles u olfativas, principalmente) (Carr et al., 1989).

Para examinar el papel relativo de la novedad, en ocasiones se han empleado aparatos de tres compartimentos, en los que los animales no se exponen a un compartimento hasta el momento del test. En este tipo de estudios, los animales suelen preferir el compartimento asociado a la droga, pero también prefieren el compartimento nuevo en comparación al asociado al salino. Igualmente, se ha utilizado este tipo de aparatos para determinar y comparar la potencia relativa de diferentes tratamientos.

Procedimiento del condicionamiento de preferencia de lugar

Por lo general, el procedimiento del CPL se compone de tres fases secuenciales, pre-exposición, condicionamiento y test de elección.

Preexposición. Durante la fase de preexposición, habituación o pre-condicionamiento, los animales son ubicados en el aparato en ausencia del EI, pudiendo explorar libremente los compartimentos. Esta fase se compone de un número variable de sesiones de diferente duración, siendo lo más común tres sesiones de 15 minutos.

En esta fase se pretenden controlar dos posibles fuentes de artefactos experimentales. En primer lugar, estas sesiones permiten que el animal se familiarice con los aparatos, buscando reducir el estrés derivado de la situación experimental. De hecho, antes de este primer contacto con el aparato, es recomendable que el experimentador manipule a los animales como lo hará durante el experimento, lo que se conoce como *handling* o manoseo, y permite reducir el efecto de la presencia y el olor

del experimentador, así como el estrés que pueden inducir las manipulaciones que realiza del animal. En segundo lugar, algunos investigadores emplean estas sesiones para determinar la preferencia inicial de los animales, y de esta manera comprobar que los resultados obtenidos no se deben a un sesgo inicial en la preferencia.

Condicionamiento. Durante esta fase se administra el fármaco (o se les expone a otro tipo de EI) y los animales son confinados a uno de los compartimentos. El número de asociaciones utilizadas habitualmente oscila entre 1 y 6, siendo 4 lo más frecuente.

Diferentes factores pueden influir en la magnitud de la preferencia condicionada, destacando la relación temporal entre EI-EC, la duración y el número de sesiones de condicionamiento. Así, la magnitud de la preferencia se incrementa con asociaciones adicionales, aunque se ha observado que un único apareamiento con determinadas drogas es suficiente para inducir CPL (Carr et al., 1989; Sanchis-Segura y Spanagel, 2006).

La duración de los ensayos de condicionamiento es un factor crucial en el diseño de una investigación con CPL (Ikemoto y Donahue, 2005). Esta duración debe establecerse en función de las características del EI y del animal. Por ejemplo, en nuestro laboratorio hemos determinado que con la cepa de ratones OF1, el CPL inducido por alcohol es de mayor magnitud con sesiones de condicionamiento de 10 minutos, en comparación con sesiones de 5, 20 o 30 minutos, y que las sesiones de condicionamiento en días alternos son más efectivas que las sesiones diarias (Roger-Sánchez, Aguilar, Rodríguez-Arias, Aragón y Miñarro, 2012), como ocurre con la MDMA (Daza-Losada et al., 2007). Mientras que con morfina se realizan condicionamientos de una hora (Manzanedo, Aguilar, Rodríguez-Arias y Miñarro, 2001), es suficiente 30 min para inducir CPL con cocaína o MDMA (Maldonado, Rodríguez-Arias, Castillo, Aguilar y Miñarro, 2006; Daza-Losada et al., 2007; Mateos-García et al., 2015).

Test de elección. En esta fase, se permite que el animal explore libremente todo el aparato, y su posición se registra durante un tiempo variable, siendo 15 minutos la duración más común. A veces la preferencia se evalúa repetidamente en diferentes ensayos de extinción, en los que la preferencia se van atenuando.

Procedimiento sesgado vs. no sesgado

Una importante variación procedimental se refiere a la asignación de los sujetos a los compartimentos. En el procedimiento *contrabalanceado* o *no sesgado* (unbiased), los sujetos son asignados aleatoriamente a los compartimentos; de forma que, la mitad de los animales reciben la droga en un compartimento y la otra mitad en el otro. Una estrategia alternativa es utilizar una asignación fija de los compartimentos, en función de la preferencia, asignando la mitad de animales a los compartimentos preferido y no preferido (Van der Kooy, 1987; Sanchis-Segura y Spanagel, 2006).

La otra variación es el *procedimiento de asignación fija* o procedimiento *sesgado* (biased), en el cual la droga es constantemente asociada con un compartimento dado (preferido o no preferido). Habitualmente los animales se condicionan al compartimento inicialmente no preferido, cuando se desea examinar una preferencia condicionada, y al compartimento inicialmente preferido cuando se pretende examinar una aversión (Spiraki, Kazandjian y Varonos, 1985). Sin embargo, estos diseños han sido criticados porque son susceptibles de producir falsos positivos; por ejemplo, si la droga tiene un fuerte componente ansiolítico (que pueda hacerle superar la aversión por el compartimento inicialmente no preferido) (Rodríguez-Arias et al., 2013; Sanchis-Segura y Spanagel, 2006; Tzschentke, 1998).

Además, se ha enfatizado la distinción entre aparatos sesgados o no sesgados, y procedimientos de asignación de estímulos sesgados o no sesgados (Cunningham, Ferree y Howard, 2003). Los aparatos no sesgados harían referencia a aquellos en los que no se observa una preferencia inicial de los animales. En este trabajo de Cunningham se observó que al utilizar aparatos no sesgados, se obtuvo una preferencia, independientemente de si la droga se asoció con el ambiente inicialmente preferido o no preferido. Sin embargo, con los aparatos sesgados, la preferencia fue aparente sólo cuando el etanol se asoció a la clave inicialmente no preferida. Igualmente, las condiciones en las que se realiza el experimento son importantes, por ejemplo, Roma y Riley (2005) observaron como ratas Sprague-Dawely, prefirieron el compartimento negro cuando las sesiones se llevaron a cabo en condiciones de luz; sin embargo, cuando el procedimiento se realizó en condiciones de oscuridad, los animales no mostraron esta preferencia. Por ello, proponen corregir este sesgo empleando luz roja.

Efectos del tiempo

Los experimentos con CPL habitualmente implican gran cantidad de ensayos de condicionamiento. Por lo tanto, es de un considerable interés práctico emplear protocolos que reduzcan el tiempo necesario para su realización, sin reducir el valor y la significación de los datos obtenidos. Una forma de conseguirlo es reduciendo el número de ensayos; otra forma sería realizando dos sesiones de condicionamiento por día. En este caso, hay que asegurarse de que los efectos de la droga de la sesión previa no son arrastrados a esta segunda sesión (Tzschentke, 1998).

La relación temporal entre la administración de la droga y la exposición a los estímulos condicionados también es importante. La mayoría de los investigadores introducen al animal en el compartimento inmediatamente después de la administración o varios minutos después de la misma. Con este procedimiento, si la vía de administración facilita rápidas y altas concentraciones de droga en el cerebro, se suele producir una preferencia condicionada, sin embargo, si la droga se administra después de la exposición al contexto, puede ocurrir un condicionamiento de aversión de lugar (CAL) en lugar de CPL (Fudala e Iwamoto, 1990; Font, Aragon y Miquel, 2006).

El momento en el que se realiza el test también es una variable a tener en cuenta. Por ejemplo, en ratas Wistar o en hamsters la expresión de la preferencia, está regulada por un patrón circadiano, mientras que las ratas Long Evans mostraron preferencia tanto si el test se llevaba a cabo en el mismo momento circadiano que las sesiones de condicionamiento, como si éste tenía lugar en un momento diferente (Cain, Chou y Ralph, 2004; Cain, Ko, Chalmers y Ralph, 2004; Cain y Ralph, 2009; Ralph et al., 2002).

Interpretación de los datos

A continuación se señalan diferentes aspectos que es necesario considerar para interpretar los datos obtenidos con el CPL.

¿Qué se aprende en el CPL?

En la mayoría de trabajos con CPL, se asume que el contexto (EC) se asocia a los EI mediante un proceso de condicionamiento Pauloviano, aunque se ha propuesto que la preferencia observada pudiera deberse también al condicionamiento operante de las conductas realizadas por el animal en el contexto asociado (Huston, Silva, Topic, y Müller, 2013). Las primeras teorías sobre los factores necesarios para la adquisición y expresión de las asociaciones condicionadas argumentaban que la contigüidad temporal era necesaria y suficiente para el aprendizaje. Pero otras posiciones teóricas proponen que se necesita una relación predictiva entre EC y EI para la adquisición de una asociación condicionada. En los experimentos con CPL habitualmente se dan ambos requisitos.

Una cuestión importante se refiere a qué evento es temporalmente contigüo con el EC, es decir, qué se asocia en realidad con el contexto. Se suele aceptar que se asocian las *condiciones estimulares* producidas por la droga. Así, el protocolo de CPL proporciona una medida del efecto recompensante de la droga (EI) similar al postulado por las teorías del *proceso opoente*, de forma que este efecto presumiblemente se incrementa y luego decrece a lo largo del tiempo desde la administración.

Lo que se toma como índice de la preferencia es un incremento en el tiempo empleado en el contexto asociado con la droga. Esta medida reflejaría un incremento en las respuestas de acercamiento al contexto asociado con las propiedades recompensantes del EI. Al contrario que en la autoadministración, donde se espera una respuesta determinada del animal para recibir la droga; en el CPL no se requiere una respuesta explícita. En el CPL el animal recibe la droga de forma pasiva, por lo que el animal no necesita realizar ninguna conducta para recibir la recompensa. Habitualmente se asume que el contexto adquiere un efecto reforzante secundario debido a las asociaciones contiguas con la droga que hacen que el EC provoque conductas de acercamiento.

Variable dependiente

La principal variable dependiente en los trabajos con CPL es el tiempo pasado en los compartimentos. Hay varias formas

de presentar estos datos (Carr et al., 1989; Cunningham et al., 2003):

- Tiempo total o porcentaje de tiempo en cada compartimento.
- Tiempo en el compartimento asociado (o no asociado) con la droga.
- Ratio de la preferencia en función del tiempo pasado en cada compartimento.
- Diferencia entre el tiempo pasado en el compartimento asociado con la droga y el no asociado.
- Diferencia entre el tiempo pasado en el compartimento asociado en el pre- y post-condicionamiento (expresado en segundos o como porcentaje).
- Número y duración de las entradas en cada compartimento.

Novedad relativa de los comportamientos

La familiarización ambiental es una forma de aprendizaje en la que ocurren cambios en el comportamiento como resultado de la experiencia con el contexto. Cuando los animales reciben una exposición igual a ambos contextos, la familiaridad ambiental parece estar equiparada, sin embargo, si la droga de interés interfiere con el aprendizaje, entonces la preferencia de lugar podría reflejar la tendencia de los animales a pasar más tiempo en un ambiente novedoso (Cunningham et al., 2003). En los estudios con roedores, por lo general los animales muestran una preferencia o tendencia a preferir los estímulos novedosos. Así, la novedad relativa de un compartimento puede servir como fuerte incentivo por lo que la preferencia de lugar puede ser también una consecuencia de una exposición desigual a ambos compartimentos, lo que hay que tener en cuenta en la interpretación de los datos (Carr et al., 1989).

La novedad, además de promover la preferencia de lugar en ausencia de efecto de recompensa, también podría ensombrecer una preferencia asociada existente. Es decir, la influencia de la novedad relativa de los compartimentos, podría producir tanto falsos positivos, como falsos negativos. Sin embargo, como se ha mencionado previamente, se han empleado aparatos con más de dos compartimentos para estudiar este efecto de la novedad, demostrándose que los animales suelen preferir el compartimento asociado al fármaco sobre el nuevo compartimento.

Aprendizaje dependiente de estado

El *aprendizaje dependiente de estado* se refiere al hecho de que una respuesta que ha sido aprendida mientras el animal estaba en un cierto estado (por ejemplo, bajo la influencia de un fármaco) sólo puede recuperarse cuando el animal se encuentra en el mismo estado (Tzschentke, 1998, 2007). Habitualmente se obtienen resultados consistentes cuando el test se lleva a cabo con o sin la influencia de la droga, por lo que no parece que el aprendizaje dependiente de estado sea un factor determinante en el establecimiento de la preferencia de lugar. Sin embargo, para excluir posibles interferencias de los efectos de

la dependencia de estado, sería interesante repetir el test, esta vez bajo los efectos del fármaco, cuando no se haya obtenido CPL o CAL en el primer test (Carr et al., 1989).

Inhibición latente

La inhibición latente se refiere al hecho de que una exposición previa a los estímulos que serán condicionados, en ausencia del EI, puede retrasar o atenuar el posterior condicionamiento (Sanchis-Segura y Spanagel, 2006). Se ha observado que la presencia o ausencia de la fase de precondicionamiento puede tener una influencia significativa en la magnitud de los efectos observados, de forma que en los estudios sin preexposición generalmente se observan efectos más duraderos. Así, es necesario llegar a un compromiso entre evitar los efectos de la inhibición latente, reduciendo el tiempo de preexposición a un mínimo, y evitar la influencia de la ansiedad o neofobia, habituando a los animales al ambiente de condicionamiento (Tzschentke, 1998). El equipo de Cunningham propone como solución a este problema, la exposición de los animales sin pleno acceso a las claves contextuales empleadas en el condicionamiento, impidiendo el acceso de los animales a las texturas del suelo mediante la colocación de un papel, durante la fase de habituación (Cunningham, Henderson y Bormann, 1998).

Contribuciones del sesgo asociativo de la memoria al CPL

El *sesgo asociativo* se refiere al fenómeno por el cual algunas asociaciones se aprenden más fácilmente que otras. Esto es importante porque algunas drogas reforzantes tienen también propiedades aversivas. Afortunadamente, estas propiedades aversivas tienen un sesgo asociativo preferencial por los estímulos gustativos, por lo que administración de una droga puede producir tanto condicionamiento de aversión a un sabor, como CPL. Por lo general, parece que las drogas se asocian fácilmente con los estímulos utilizados en los estudios con CPL, pero el problema del sesgo asociativo debería tenerse en cuenta en los casos en los que aparezcan resultados anómalos.

Asimismo, la determinación de una preferencia puede depender de la memoria. Algunos fármacos reforzantes han demostrado mejorar la retención de la información, y este efecto podría estar relacionado con sus capacidades reforzantes. Así, cuando no se encuentra una preferencia por un fármaco, esto no indicaría necesariamente una carencia de propiedades recompensantes, ya que este podría ser recompensante, pero el animal ser incapaz de recordar la asociación. En este sentido, se ha observado una preferencia más prolongada en el tiempo, o una mayor vulnerabilidad a la recaída, cuando se realizan ensayos de condicionamiento adicionales (Carr et al., 1989; Rodríguez-Arias, Castillo, Daza-Losada, Aguilar y Miñarro, 2009).

Dependencia de los efectos motores de las drogas

Las drogas que son reforzantes tienden a aumentar la actividad motora. Estas RI motoras podrían también ser condicionadas y provocadas por los EC. Se ha sugerido que el incremento

incondicionado en la actividad causado por una droga podría ser causante de la preferencia y que un decremento en la actividad podría producir CAL.

La tendencia de las drogas que son reforzantes a aumentar la actividad, sería consistente con este argumento. Sin embargo también hay evidencia que sugiere que los efectos en la actividad no contribuirían significativamente al CPL. Además hay evidencia de que cuando se bloquea el efecto estimulante motor de una droga reforzante, los animales continúan mostrando preferencia. Por lo que se puede concluir que no hay una relación clara entre los efectos motores y el CPL (Carr et al., 1989).

Comparación con los datos de autoadministración

Los datos generados por ambos paradigmas generalmente son consistentes. Con pocas excepciones, las drogas que se autoadministran también producen preferencia condicionada de lugar y viceversa. En un principio, se pensó que ambas técnicas medían un mismo proceso denominado recompensa o refuerzo; debido a esta confusión, el CPL sustituyó a la autoadministración como técnica para medir el refuerzo, ya que el CPL no requería cirugía, era más barato y requería relativamente poco entrenamiento.

Pero los resultados no siempre coinciden con ambas técnicas (Bardo y Bevins, 2000; Van der Kooy, 1987), ya que los requerimientos de ambas también son diferentes. En el caso de la autoadministración se necesitan respuestas operantes del animal, pero no en el caso del CPL. Además los efectos motores de algunas drogas pueden interferir en los requerimientos de la prueba de autoadministración.

Un factor que merece consideración es el hecho de que la autoadministración requiere un entrenamiento importante. Para bloquear la autoadministración, un tratamiento debe bloquear el efecto reforzante y las respuestas operantes asociadas. Dado que en el CPL solo es necesario bloquear el efecto recompensante de la sustancia, es posible que este paradigma sea más sensible al bloqueo de la recompensa (Carr et al., 1989).

Hay varios ejemplos en la literatura que indican que los mecanismos neurofarmacológicos que subyacen a la autoadministración y al CPL son diferentes. Por ejemplo, experimentos con autoadministración han demostrado que la manipulación de la neurotransmisión dopaminérgica bloquea la reinstauración inducida por heroína (Aguilar, Rodríguez-Arias y Miñarro, 2009), mientras que con el CPL se ha observado que antagonistas dopaminérgicos no bloquean la reinstauración de la preferencia inducida por priming de morfina (Ribeiro Do Couto, Aguilar, Manzanedo, Rodríguez-Arias y Miñarro, 2005). Una diferencia importante es que en el CPL el animal recibe la droga de forma pasiva. En general, el incremento en la actividad dopaminérgica observado con la autoadministración de drogas, se ve atenuada en los animales que reciben la droga de manera pasiva (Stefanski, Ladenheim, Lee, Cadet y Goldberg, 1999).

De este modo, ambos paradigmas no pueden ser equiparados como procedimientos alternativos enfocados a medir un

mismo proceso; sino que proporcionan información diferentes, pero complementaria a la hora de comprender los mecanismos reforzantes, motivacionales y bioquímicos relacionados con las sustancias de abuso (Bardo y Bevins, 2000).

Aplicaciones del CPL

El mayor campo de aplicación de esta técnica ha sido el estudio de las propiedades motivacionales de las drogas. Bajo las condiciones adecuadas, drogas como la cocaína, anfetaminas, metanfetamina, morfina, nicotina, etanol, cafeína y cannabinoides producen CPL. Pero además existe un amplio rango de estímulos que pueden condicionar una preferencia de lugar. Por ejemplo, el acceso a estímulos naturales como comida, agua, bebidas dulces, interacción coespecífica en ratas jóvenes, acceso a una rueda de actividad, interacción sexual, administración de hormonas, interacción con sus propias crías en ratas hembra, agresión exitosa en ratones y estímulos novedosos pueden condicionar preferencias en roedores. Estas preferencias pueden cambiar en función del estado motivacional; así las ratas con restricción de comida prefieren el contexto previamente asociado con la comida, mientras que las ratas con restricción de agua prefieren un contexto previamente asociado con agua (Tzschentke, 1998).

La principal ventaja del CPL sobre otros métodos, es su sensibilidad tanto a sus propiedades recompensantes como aversivas. Esta característica ha permitido estudiar algunas cuestiones importantes en el área de la motivación. Por ejemplo Swerdlow, van der Kooy, Koob y Wenger (1983), estudiaron la influencia de la colecistokinina (CCK) en la conducta de ingesta. La CCK reduce la ingesta de comida en ratas deprivadas de forma dosis dependiente. Esto podría ser debido a que la CCK induce saciedad o malestar. Sin embargo, en ratas deprivadas y no deprivadas, se observó un CAL inducido por esta sustancia, apoyando la hipótesis del malestar inducido por la CCK. De forma similar, fármacos como la naloxona, el cloruro de litio o la vasopresina inducen aversión (Van der Kooy, 1987).

El CPL se ha empleado en el estudio de los efectos aversivos inducidos por la retirada de las drogas. Por ejemplo, en nuestro laboratorio hemos demostrado que la administración de naloxona en ratones dependientes de morfina produce CAL (Maldonado, Rodríguez-Arias, Aguilar y Miñarro, 2004).

El CPL también se ha aplicado en el estudio de la recaída. La reinstauración de la preferencia inducida por drogas tras un periodo en el que esta respuesta se había extinguido, se ha empleado como modelo para tal fin. Se han estudiado diferentes condiciones facilitadoras y protectoras de la recaída, por ejemplo las condiciones de alojamiento y crianza, la oportunidad de interacción sexual, el estrés, la administración de pequeñas dosis de la droga, etc (Aguilar et al., 2009; Tzschentke, 2007).

El estudio de la sensibilización a los efectos de las drogas es relevante ya que presuntamente juega un papel importante en el desarrollo de la dependencia. Los factores temporales relativos a la administración de la droga juegan un papel primordial en

la determinación del desarrollo de sensibilización o tolerancia. Así, parece que la administración continua o frecuente de bajas dosis de drogas generalmente produce tolerancia, mientras que la administración intermitente o de altas dosis produce sensibilización (Tzschentke, 1998).

Mediante el paradigma de CPL también se han estudiado los efectos de tolerancia y sensibilización cruzadas entre diferentes sustancias. Por ejemplo, Manzanedo, Aguilar, Rodríguez-Arias, Navarro y Miñarro (2004) encontraron que un agonista canabinoide produjo sensibilización a la preferencia inducida por la morfina.

El CPL ha permitido estudiar también los efectos a largo plazo de la administración prenatal y perinatal de drogas. Por ejemplo, nuestro grupo ha demostrado que la exposición prenatal a cocaína disminuye la respuesta a las propiedades recompensantes de la morfina en ratones adultos (Estellés et al., 2006).

El paradigma CPL también se ha empleado para el estudio de las vías neurales implicadas en la recompensa inducida por las drogas. Para lo cual se emplean fármacos que atenúan o bloquean el efecto recompensante de las drogas, se administran fármacos en áreas cerebrales específicas o mediante la lesión selectiva de determinados núcleos o vías neurales (Tzschentke, 1998). Por ejemplo, en nuestro laboratorio hemos empleado el CPL para demostrar la implicación de diferentes sistemas de neurotransmisión en los efectos reforzantes de la cocaína (Maldonado et al., 2006; Maldonado, Rodríguez-Arias, Castillo, Aguilar y Miñarro, 2007), la morfina (Manzanedo et al., 2001; Ribeiro Do Couto, Aguilar, Manzanedo, Rodríguez-Arias y Miñarro, 2004) o la MDMA (García-Pardo, Escobar-Valero, Rodríguez-Arias, Miñarro y Aguilar, 2015; Vidal-Infer et al., 2012).

También existe una creciente literatura sobre el estudio de los aspectos motivacionales del dolor empleando el CPL, un campo de la investigación preclínica que ha recibido escasa atención, debido a la falta de modelos animales apropiados (Tzschentke, 2007)

Ventajas y limitaciones de la técnica

Diversas revisiones se han realizado sobre la utilización de esta técnica, haciendo referencia a las principales ventajas y limitaciones de la misma (Bardo y Bevins, 2000; Carr et al., 1989; Sanchis-Segura y Spanagel, 2006; Schechter y Calcagnetti, 1993). Comentaremos las principalmente citadas.

Ventajas

El CPL es una técnica muy sensible a dosis bajas de droga. Por ejemplo, dosis bajas de morfina producen preferencia condicionada por el lugar, incluso a dosis sin efectos detectables en locomoción o analgesia.

Se puede inducir preferencia mediante una sola asociación con la droga. Esta información es interesante, ya que la evidencia clínica sugiere que la vulnerabilidad al abuso está relacionada con el refuerzo producido por la experiencia inicial con la droga.

El CPL permite determinar tanto los efectos recompensantes como aversivos de las drogas.

Se puede realizar el test con el animal en un estado libre de droga. Esto elimina el problema de que la droga produzca cambios sensoriales o motores que puedan confundir e interferir con la medida de la recompensa.

No se necesita cirugía para implantar un catéter, ya que habitualmente las sustancias se administran por vía intraperitoneal o subcutánea. Esto la convierte en una técnica barata y asequible.

Se puede determinar la actividad motora simultáneamente. Esto es importante ya que se ha propuesto la posibilidad de un circuito cerebral común subyacente tanto para el refuerzo como para la estimulación locomotora.

El CPL se puede adaptar a variedad de animales de laboratorio. Principalmente se ha empleado con roedores, pero se pueden utilizar otras especies como primates (Barros et al. 2013), peces cebra (Collier y Echevarria, 2013) o moscas (Kaun, Azanchi, Maung, Hirsh y Heberlein, 2011).

Permite un buen control de la dosificación del fármaco. El paradigma de CPL evita la ambigüedad producida por la variabilidad inter-sujetos e inter-grupos, observada en otras técnicas, en cuanto a las dosis empleadas.

Puede emplearse para determinar las propiedades motivacionales de los reforzadores naturales. Asimismo permite distinguir la implicación de un sistema de neurotransmisión en las propiedades recompensantes de drogas y refuerzos naturales. Por ejemplo, se ha demostrado que los receptores NMDA están implicados en los efectos recompensantes de la MDMA pero no del chocolate (García-Pardo et al., 2015).

Limitaciones

La principal crítica se refiere a la potencial confusión respecto a la influencia del comportamiento de *búsqueda de novedad*, en el día del test. Sin embargo, cuando se ha testado a ratas en aparatos de CPL con tres compartimentos, estas han mostrado una preferencia por el contexto asociado a la droga, negando así la interpretación de la novedad.

Otra limitación es la dificultad para generar el tipo de *información dosis-efecto* normalmente esperada en la farmacología comportamental. Cada punto de la curva dosis-efecto requiere un grupo independiente de animales, lo que supone una limitación práctica para el número de dosis que pueden ser razonablemente testadas.

Se ha argumentado que el CPL no es particularmente sensible a los cambios en cuanto a las dosis de droga empleadas. Así las curvas dosis-efecto que se obtienen en el CPL habitualmente, aunque no siempre, parecen más de todo o nada que siguiendo una gradación.

Otra limitación procede de la tendencia de los animales a preferir uno de los dos contextos del aparato antes del condicionamiento. Construir un aparato que minimice este sesgo inicial o contrabalancear la asignación de los animales son soluciones a este problema.

Otro problema se refiere a la multitud de variaciones del procedimiento, dificultando las comparaciones de los datos obtenidos.

Además diferentes cepas de ratas o ratones pueden mostrar diferencias respecto a la capacidad de las drogas para inducir preferencia condicionada de lugar.

Conclusiones

El CPL ha sido muy popular durante las últimas décadas. Sin embargo, la utilización de ciertos procedimientos, puede producir resultados menos fiables. Así, la utilización de un procedimiento de asignación fija hacia el compartimento inicialmente no preferido, o la no inclusión de asociaciones controles con salino en el compartimento alternativo, pueden producir resultados que podrían ser erróneamente atribuidos a un efecto recompensante de la droga. Los estudios con estas limitaciones metodológicas pueden reflejar igualmente un efecto recompensante, sin embargo, los resultados estarían abiertos a otras interpretaciones alternativas.

La mayoría de las críticas que ha recibido este paradigma, hacen referencia a cuestiones procedimentales, las cuales en mayor o menor medida han podido ser subsanadas. Un tema pendiente sigue siendo el establecimiento de un protocolo estandarizado que favorezca la comparación de resultados. En este sentido se propone:

- Uso de la textura del suelo y las claves visuales como señales de asociación al efecto de la droga.

- La necesidad de controlar las preferencias incondicionadas iniciales.

- Uso de sesiones de precondicionamiento: recomendables tanto para familiarizar a los animales con los aparatos, como para permitir la determinación de la preferencia incondicionada. Considerar el fenómeno de la inhibición latente.

- Determinación del número y duración de las sesiones de condicionamiento en función de las propiedades farmacodinámicas de la droga de interés.

- Procedimiento de asignación de los EC no sesgado. El procedimiento recomendado sería determinar la preferencia inicial, eliminar los valores extremos y asignar la mitad de los animales al compartimento preferido y la otra mitad al no preferido. Asimismo, la mitad de los sujetos recibirían el tratamiento en cada compartimento (por ejemplo, blanco vs. negro).

- Los animales deben ser igualmente expuestos a ambos compartimentos.

- Se propone la presentación de los tiempos brutos en cada compartimento para facilitar la comparación entre laboratorios.

El uso de estos procedimientos permite controlar la mayor parte de los factores que han sido criticados. Así, el paradigma de CPL puede servir como medida sensible y fiable de las propiedades motivacionales de las drogas u otros reforzadores naturales.

Como ventajas más destacables hay que señalar la rapidez del método, su sensibilidad a bajas dosis de drogas, la posibi-

lidad de evitar realizar el test sin la influencia del fármaco, su capacidad para estudiar tanto las propiedades recompensantes como las aversivas y el hecho de que permita un preciso control de la dosis.

Una crítica persistente que se había hecho era la ausencia de trabajos en especies superiores, pero recientemente se han publicado trabajos tanto en primates (Barros et al. 2013; Wang et al., 2012; Yan et al., 2015) como en humanos (Childs y de Wit, 2009, 2013), apoyando la suposición de que el CPL se establece por medio de efectos análogos a los efectos subjetivos de las drogas en humanos.

Por último, señalar que la información que nos proporciona la técnica de CPL es distinta de la ofrecida por la autoadministración, siendo ambas técnicas complementarias en la comprensión de los mecanismos implicados en las propiedades motivacionales de las sustancias de abuso. Estos datos pueden proporcionar información crítica para el desarrollo de intervenciones farmacológicas y comportamentales en el ámbito de las drogodependencias.

Referencias

1. Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., y Miñarro, J. (2009). Neurobiological mechanisms of the reinstatement of drug-conditioned place preference. *Brain Research Reviews*, 59, 253-277. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres-rev.2008.08.002>
2. Bardo, M. T., y Bevins, R. A. (2000). Conditioned place preference: What does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology*, 153, 31-43. <http://dx.doi.org/10.1007/s002130000569>
3. Barros, M., Dempster, E. L., Illott, N., Chabrawi, S., Maior, R. S., Tomaz, C., Silva, M.A., Huston, J.P., Mill, J., y Müller, C.P. (2013). Decreased methylation of the NK3 receptor coding gene (TACR3) after cocaine-induced place preference in marmoset monkeys. *Addiction biology*, 18, 452-454. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1369-1600.2011.00409.x>
4. Beach, H. D. (1957). Morphine addiction in rats. *Canadian Journal of Psychology*, 11, 104-112. <http://dx.doi.org/10.1037/h0083703>
5. Cain, S. W., Chou, T., y Ralph, M. R. (2004). Circadian modulation of performance on an aversion-based place learning task in hamsters. *Behavioural Brain Research*, 150, 201-205. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2003.07.001>
6. Cain, S., Ko, C., Chalmers, J. A., y Ralph, M. R. (2004). Time of day modulation of conditioned place preference in rats depends on the strain of rat used. *Neurobiology of Learning and Memory*, 81, 217-220. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2004.02.003>
7. Cain, S. W., y Ralph, M. R. (2009). Circadian modulation of conditioned place avoidance in hamsters does not require the suprachiasmatic nucleus. *Neurobiology of Learning and Memory*, 91, 81-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2008.10.005>

8. Carr, G. D., Fibiger, H. C., y Phillips, A. G. (1989). *Conditioned place preference as a measure of drug reward*. In: Lieberman JM, Cooper SJ, *The Neuropharmacological Basis of Reward* (pp. 264 – 319). Clarendon Press/Oxford University Press
9. Childs, E., y De Wit, H. (2009). Amphetamine-induced place preference in humans. *Biological Psychiatry*, 65, 900-904. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.11.016>
10. Childs, E., y De Wit, H. (2013). Contextual conditioning enhances the psychostimulant and incentive properties of d-amphetamine in humans. *Addiction Biology*, 18, 985-992. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1369-1600.2011.00416.x>
11. Collier, A. D., y Echevarria, D. J. (2013). The utility of the zebrafish model in conditioned place preference to assess the rewarding effects of drugs. *Behavioural Pharmacology*, 24, 375-383. <http://dx.doi.org/10.1097/FBP.0b013e328363d14a>
12. Cunningham, C. L., Henderson, C. M., y Bormann, N. M. (1998). Extinction of ethanol-induced conditioned place preference and conditioned place aversion: Effects of naloxone. *Psychopharmacology*, 139, 62-70. <http://dx.doi.org/10.1007/s002130050690>
13. Cunningham, C. L., Ferree, N. K., y Howard, M. A. (2003). Apparatus bias and place conditioning with ethanol in mice. *Psychopharmacology*, 170, 409-422. <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-003-1559-y>
14. Daza-Losada, M., Ribeiro Do Couto, B., Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., y Miñarro, J. (2007). Rewarding effects and reinstatement of MDMA-induced CPP in adolescent mice. *Neuropsychopharmacology*, 32, 1750-1759. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.npp.1301309>
15. Estellés, J., Rodríguez-Arias, M., Maldonado, C., Manzanedo, C., Aguilar, M. A., y Miñarro, J. (2006). Prenatal cocaine alters later responses to morphine in adult male mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 30, 1073-1082. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2006.04.014>
16. Font, L., Aragon, C. M. G., y Miquel, M. (2006). Ethanol-induced conditioned place preference, but not aversion, is blocked by treatment with D -penicillamine, an inactivation agent for acetaldehyde. *Psychopharmacology*, 184, 56-64. <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-005-0224-z>
17. Fudala, P. J., y Iwamoto, E. T. (1990). Conditioned aversion after delay place conditioning with amphetamine. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 35, 89-92. [http://dx.doi.org/10.1016/0091-3057\(90\)90209-Z](http://dx.doi.org/10.1016/0091-3057(90)90209-Z)
18. García-Pardo, M. P., Escobar-Valero, C., Rodríguez-Arias, M., Miñarro, J., y Aguilar, M. A. (2015). Involvement of NMDA glutamate receptors in the acquisition and reinstatement of the conditioned place preference induced by MDMA. *Behavioural Pharmacology*, 26, 411-417. <http://dx.doi.org/10.1097/FBP.0000000000000138>
19. Garcia, J., Kimeldorf, D. J., y Hunt, E. L. (1957). Spatial avoidance in the rat as a result of exposure to ionizing radiation. *The British Journal of Radiology*, 30, 318-321. <http://dx.doi.org/10.1259/0007-1285-30-354-318>
20. Huston, J. P., de Souza Silva, M. A., Topic, B., y Müller, C. P. (2013). What's conditioned in conditioned place preference? *Trends in Pharmacological Sciences*, 34, 163-167. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2013.01.004>
21. Ikemoto, S., y Donahue, K. M. (2005). A five-minute, but not a fifteen-minute, conditioning trial duration induces conditioned place preference for cocaine administration into the olfactory tubercle. *Synapse*, 56, 57-59. <http://dx.doi.org/10.1002/syn.20124>
22. Kaun, K. R., Azanchi, R., Maung, Z., Hirsh, J., y Heberlein, U. (2011). A drosophila model for alcohol reward. *Nature Neuroscience*, 14, 612-619. <http://dx.doi.org/10.1038/nn.2805>
23. Maldonado, C., Rodríguez-Arias, M., Castillo, A., Aguilar, M. A., y Miñarro, J. (2007). Effect of memantine and CNQX in the acquisition, expression and reinstatement of cocaine-induced conditioned place preference. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 31, 932-939. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.02.012>
24. Maldonado, C., Rodríguez-Arias, M., Aguilar, M. A., y Miñarro, J. (2004). GHB ameliorates naloxone-induced conditioned place aversion and physical aspects of morphine withdrawal in mice. *Psychopharmacology*, 177, 130-140. <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-004-1927-2>
25. Maldonado, C., Rodríguez-Arias, M., Castillo, A., Aguilar, M. A., y Miñarro, J. (2006). Gamma-hydroxybutyric acid affects the acquisition and reinstatement of cocaine-induced conditioned place preference in mice. *Behavioural Pharmacology*, 17, 119-131. <http://dx.doi.org/10.1097/01.fbp.0000190685.84984.ec>
26. Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., y Miñarro, J. (2001). Effects of dopamine antagonists with different receptor blockade profiles on morphine-induced place preference in male mice. *Behavioural Brain Research*, 121, 189-197. [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00164-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00164-4)
27. Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., Navarro, M., y Miñarro, J. (2004). Cannabinoid agonist-induced sensitisation to morphine place preference in mice. *Neuroreport*, 15, 1373-1377. <http://dx.doi.org/10.1097/01.wnr.0000126217.87116.8c>
28. Mateos-García, A., Roger-Sánchez, C., Rodríguez-Arias, M., Miñarro, J., Aguilar, M. A., Manzanedo, C., y Arenas, M.C. (2015). Higher sensitivity to the conditioned rewarding effects of cocaine and MDMA in high-novelty-seekers mice exposed to a cocaine binge during adolescence. *Psychopharmacology*, 232, 101-113. <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-014-3642-y>
29. Olds, J., y Milner, P. (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other

- regions of rat brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 47, 419-427. <http://dx.doi.org/10.1037/h0058775>
30. Ralph, M. R., Ko, C. H., Antoniadis, E. A., Seco, P., Irani, F., Presta, C., y McDonald, R.J. (2002). The significance of circadian phase for performance on a reward-based learning task in hamsters. *Behavioural Brain Research*, 136, 179-184. [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328\(02\)00131-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328(02)00131-6)
 31. Ribeiro Do Couto, B., Aguilar, M. A., Manzanedo, C., Rodríguez-Arias, M., y Miñarro, J. (2005). NMDA glutamate but not dopamine antagonists blocks drug-induced reinstatement of morphine place preference. *Brain Research Bulletin*, 64, 493-503. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2004.10.005>
 32. Ribeiro Do Couto, B., Aguilar, M. A., Manzanedo, C., Rodríguez-Arias, M., y Miñarro, J. (2004). Effects of NMDA receptor antagonists (MK-801 and memantine) on the acquisition of morphine-induced conditioned place preference in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 28, 1035-1043. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2004.05.038>
 33. Rodríguez-Arias, M., Castillo, A., Daza-Losada, M., Aguilar, M. A., y Miñarro, J. (2009). Effects of extended cocaine conditioning in the reinstatement of place preference. *Physiology & Behavior*, 96, 620-630. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.12.011>
 34. Rodríguez-Arias, M., Valverde, O., Daza-Losada, M., Blanco-Gandía, M. C., Aguilar, M. A., y Miñarro, J. (2013). Assessment of the abuse potential of MDMA in the conditioned place preference paradigm: Role of CB1 receptors. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 47, 77-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.07.013>
 35. Roger-Sánchez, C., Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., Aragon, C. M., y Miñarro, J. (2012). Age- and sex-related differences in the acquisition and reinstatement of ethanol CPP in mice. *Neurotoxicology and Teratology*, 34, 108-115. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ntt.2011.07.011>
 36. Roma, P. G., y Riley, A. L. (2005). Apparatus bias and the use of light and texture in place conditioning. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 82, 163-169. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2005.08.004>
 37. Rossi, N. A., y Reid, L. D. (1976). Affective states associated with morphine injections. *Psychobiology*, 4, 269-274. <http://dx.doi.org/10.3758/BF03332869>
 38. Ruiz G, Sánchez N, y de la Casa LG (1999). Edward Lee Thorndike y la psicología animal. En Tortosa F., (editor), *Una Historia de la Psicología Moderna* (pp. 283-292). Madrid: McGraw-Hill.
 39. Sanchis-Segura, C., y Spanagel, R. (2006). Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: An overview. *Addiction Biology*, 11, 2-38. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1369-1600.2006.00012.x>
 40. Schechter, M. D., y Calcagnetti, D. J. (1993). Trends in place preference conditioning with a cross-indexed bibliography; 1957-1991. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 17, 21-41. [http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634\(05\)80228-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634(05)80228-3)
 41. Spragg S.D.S. (1940). Morphine addiction in chimpanzees. *Comparative Psychology Monographs*, 15:1-132
 42. Spyraiki, C., Kazandjian, A., y Varonos, D. (1985). Diazepam-induced place preference conditioning: Appetitive and antiaversive properties. *Psychopharmacology*, 87, 225-232. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00431813>
 43. Stefanski, R., Ladenheim, B., Lee, S. H., Cadet, J. L., y Goldberg, S. R. (1999). Neuroadaptations in the dopaminergic system after active self-administration but not after passive administration of methamphetamine. *European Journal of Pharmacology*, 371, 123-135. [http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999\(99\)00094-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999(99)00094-1)
 44. Swerdlow, N. R., van der Kooy, D., Koob, G. F., y Wenger, J. R. (1983). Cholecystokinin produces conditioned place-aversions, not place-preferences, in food-deprived rats: Evidence against involvement in satiety. *Life Sciences*, 32, 2087-2093. [http://dx.doi.org/10.1016/0024-3205\(83\)90096-6](http://dx.doi.org/10.1016/0024-3205(83)90096-6)
 45. Tzschentke, T. M. (1998). Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: A comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. *Progress in Neurobiology*, 56, 613-672. [http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0082\(98\)00060-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0082(98)00060-4)
 46. Tzschentke, T. M. (2007). Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: Update of the last decade. *Addiction Biology*, 12, 227-462. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1369-1600.2007.00070.x>
 47. Van der Kooy, D. (1987). Place conditioning: A simple and effective method for assessing the motivational properties of drugs. In: Bozarth (editor), *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs* (pp. 229-240). New York: Springer-Verlag. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4612-4812-5_13
 48. Vidal-Infer, A., Roger-Sánchez, C., Daza-Losada, M., Aguilar, M. A., Minarro, J., y Rodríguez-Arias, M. (2012). Role of the dopaminergic system in the acquisition, expression and reinstatement of MDMA-induced conditioned place preference in adolescent mice. *PLoS One*, 7, e43107. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0043107>

Fecha de recepción: 8 de abril, 2016

Fecha de recepción de la versión modificada: 8 de junio, 2016

Fecha de aceptación: 9 de junio, 2016