

Evaluación de propiedades motivacionales del alcohol en infancia y adolescencia

Resumen. Las propiedades motivacionales del etanol son factores determinantes en la transición desde un consumo ocasional al patrón compulsivo de consumo que define a la dependencia. Este trabajo analiza la capacidad hedónica del etanol en ratas infantiles y adolescentes, con especial atención a la relación entre este aprendizaje motivacional y la ingesta de etanol. Mediante procedimientos de aversión adquirida al sabor, condicionamiento de preferencia al lugar y aprendizaje operante se observó que infantiles y adolescentes son altamente sensibles a los efectos aversivos, apetitivos y ansiolíticos del alcohol. Recientes resultados indican, así mismo, que la exposición al alcohol durante la temprana adolescencia aumenta la ingesta posterior de esta droga y que ciertas sub-poblaciones de sujetos -- aquellos con mayor respuesta a los efectos estimulantes de la droga -- son particularmente sensibles a estos efectos facilitadores de la exposición etílica temprana sobre el consumo posterior. Estos resultados aumentan nuestro conocimiento sobre los efectos del alcohol durante el desarrollo y sugieren que el consumo de alcohol por debajo de la edad legal puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de problemas con la droga.

Abstract. The motivational properties of ethanol are important in the transition from occasional drinking to the compulsive pattern of intake that defines alcohol dependence. The present work analyzed the hedonic effects of alcohol in infant and adolescent rats, with a special focus in the association between this motivational learning and ethanol intake. It was found, through the use of conditioned taste aversion, conditioned place preference and operant learning techniques, that both infant and adolescents exhibit appetitive, aversive and anxiolytic ethanol-mediated learning. Recent results also indicate that ethanol exposure during adolescence enhances later alcohol ingestion and that certain subpopulations of subjects -- those exhibiting higher ethanol-induced stimulation are even more susceptible to these permissive effects of early alcohol on later alcohol consumption. These results advance our knowledge on the effects of alcohol during development and suggest that underage drinking could be a risk factor for the development of problems with this drug.

Introducción

Durante el 2009 se ejecutó un programa de investigación que analizó mediante el uso de un modelo animal, factores de vulnerabilidad vinculados con el consumo exacerbado de alcohol durante la adolescencia. Este proyecto se basó sobre estudios previos de este grupo de trabajo que habían analizado similares fenómenos en infantiles y períodos del desarrollo temprano. Estos antecedentes redundaron en resultados de importancia propia y proveyeron información y metodologías que fueron muy útiles para el desarrollo del proyecto mayor con los sujetos adolescentes.

Este manuscrito presenta estos antecedentes en una primera sección, para de esta manera proveer al lector de mayores herramientas para la comprensión de las investigaciones más recientes, las cuáles se resumen en una segunda sección.

Pautassi, Ricardo Marcos^{1,3}; Acevedo, María Belén^{2,3}, y Fabio, María Carolina^{2,3}

¹Investigador Adjunto CONICET.

²Becaria Doctoral ANPCyT-SECyT

³Facultad de Psicología, UNC.

La escritura de este manuscrito y los experimentos reseñados en el fueron realizados con el soporte financiero de Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT, Programa de recursos humanos, PRH-UNC) y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, Subsidio PIP 2010-2012).

Enviar correspondencia a:

Ricardo Marcos Pautassi

E-mail: rpautassi@gmail.com

Los lectores interesados en encontrar una versión más detallada del estado actual de nuestras investigaciones puede remitirse a tres recientes revisiones de la literatura que se han publicado en colaboración con colegas argentinos, brasileros, chilenos y norteamericanos. Una revisión ha sido publicada en un libro de edición nacional (Pautassi, Acevedo & Ponce, 2009), las restantes en revistas referadas internacionalmente (Pautassi, Nizhnikov & Spear, 2009; Pautassi, Camarini, Miczek & Israel, 2010). Estas últimas resumen los trabajos realizados por este y otros grupos de investigación en relación a la evaluación de efectos motivacionales del alcohol en ratas infantiles y relaciona estos hallazgos empíricos con teorías sobre el desarrollo de problemas con el alcohol en función de la experiencia temprana con dicha droga (Spear & Molina, 2005; Abate y cols, 2008). El capítulo de libro se centra sobre los condicionamientos de primer y segundo orden descriptos en los párrafos anteriores y su utilidad para detectar efectos apetitivos del etanol en ratas infantiles y adolescentes.

Sección I: Antecedentes experimentales ejecutados por el grupo de Investigación

La relación entre exposición temprana a dosis elevadas de etanol (EtOH) y efectos teratológicos (malformaciones craneofaciales, menor peso y altura, retraso mental) es largamente conocida (Jones, 1973). Sin embargo, hacia fines de la década del 90 la convergencia de resultados provenientes de la investigación humana y animal sugería que exposiciones moderadas al etanol durante la gestación tardía también podían afectar el desarrollo, aún cuando dichas experiencias no estuvieran asociadas a consecuencias teratológicas. Estudios epidemiológicos indicaban que la exposición prenatal al etanol modificaba dramáticamente la ingesta de esta droga durante la adolescencia y la adultez (Baer y cols., 1998). Al mismo tiempo, fenómenos análogos eran reportados mediante el empleo de modelos animales. En la rata, la contaminación del líquido amniótico con etanol previo a la cesárea inducía memorias neonatales relativas a los atributos sensoriales de la droga (Molina y cols., 1995). Asimismo, la experiencia con etanol durante la gestación tardía estaba asociada en la infancia a un reconocimiento diferencial del olor de la droga y a un consumo exagerado de la misma (Domínguez y cols., 1998). Estos trabajos indicaban a la temprana infancia como un estadio del desarrollo definido por una particular sensibilidad a los efectos motivacionales del etanol. Esta hipótesis era también fomentada por estudios preliminares que indicaban que los neonatos de rata codificaban efectos apetitivos de dosis bajas de alcohol (Cheslock et al., 2001). En función de estos antecedentes, se diseñó un proyecto de investigación dirigido a indagar la percepción hedónica del etanol en ratas infantiles, con especial atención a la posibilidad que la droga ejerciera efectos hedónicos diferenciales (i.e., bifásicos) durante el transcurso del proceso tóxico. Es decir, la capacidad de la droga para generar respuestas condicionadas caracterizadas por componentes afectivos específico podía depender del momento del proceso tóxico en el cual el estímulo condicionado (EC) era presentado. Se había sugerido que el etanol ejerce efectos apetitivos muy rápido luego de su administración, durante la parte ascendente de la curva de alcohol en sangre. En tanto, efectos

aversivos de la droga serían evidentes en momentos tardíos del proceso tóxico, cuando los niveles de alcohol en sangre (NAS) son mínimos (Risinger y Cunningham, 1992).

La evaluación de efectos aversivos étlicos implican un procedimiento en el cual las ratas infantiles (día postnatal 14, DP 14) eran administradas con etanol (2,5 g/kg, i.g., estímulo incondicionado, EI) y luego expuestas a un sabor novel (sacarina, estímulo condicionado, EC). Esta preparación deriva en la expresión de potentes aversiones condicionadas al sabor. Los infantes que experimentaban la sacarina en contiguidad con los efectos farmacológicos del etanol mostraban un menor consumo de este EC en comparación con animales expuestos tanto a la droga como a la sacarina, pero en forma explícitamente no apareada. Dosis elevadas (2,5 g/kg, NAS mínimo: 200 mg%) inducían este aprendizaje en sólo un ensayo de condicionamiento (Pautassi y cols., 2002a). Interesantemente, el aprendizaje aversivo persistía utilizando dosis bajas (0,5 g/kg, NAS mínimo: 42 mg%) y luego de un tratamiento de preexposición crónica al psicotrópico (Pautassi y cols. 2005b). En roedores adultos, la reducción en la expresión de aversiones adquiridas al sabor mediadas por el etanol luego de preexposición a la droga ha sido observada repetidamente (Risinger y Cunningham, 1995). En nuestros trabajos la memoria gustativo-aversiva fue altamente resistente a la preexposición ética previa, sugiriendo la existencia de posibles diferencias ontogénicas en el desarrollo de tolerancia ética.

Los resultados previos indican que los infantes poseen una alta sensibilidad a los efectos aversivos del etanol. ¿Percibirán también estos animales atributos alternativos, no aversivos de la droga? Para responder a este interrogante, los infantes fueron nuevamente expuestos a un EC sávido (sacarina) durante un intervalo postadministración (25-35 min.) caracterizado por NAS mínimos. Como describíamos, este procedimiento usualmente deriva en la adquisición de una aversión condicionada al sabor. Un EC alternativo (una textura saliente, papel de lija) era presentado durante el inicio del proceso postabsortivo (5-15 min). Estudios realizados en adultos no habían observado adquisición de aversiones condicionadas durante este período (Brasser et al., 1993) y algunas investigaciones habían incluso descrito efectos apetitivos (Risinger & Cunningham, 1992). ¿Derivaría nuestro procedimiento en aprendizajes motivacionales diferenciales (respuestas apetitivas y aversivas hacia las claves táctiles y gustativas, respectivamente) o prevalecerían los efectos aversivos del etanol y, por lo tanto, ambos estímulos serían condicionados aversivamente? Los resultados indicaron la adquisición de aversión adquirida al sabor, pero no se observaron evidencias de aprendizajes apetitivos o aversivos hacia la textura. Sin embargo, los infantes codificaron información relativa a la clave táctil y a su contingencia con la parte temprana del proceso postabsortivo étlico. En lo que probablemente sea el resultado más interesante de este experimento, se observó que la expresión de la aversión al sabor se inhibió totalmente cuando los infantes eran expuestos a la clave táctil ya sea antes o durante las pruebas de consumo de sacarina (Pautassi y cols., 2002a). Este fenómeno sugirió que, en ratas infantiles, el etanol induce aprendizajes hedónicos diferenciales a lo largo del transcurso del

proceso tóxico. La clave táctil habría adquirido propiedades inhibitorias en relación a los efectos aversivos subsiguientes del psicotrópico. Posteriores experimentos (Pautassi y cols., 2001; Pautassi y cols., 2002b) replicaron estos resultados y, asimismo, descartaron que la capacidad inhibitoria de la clave táctil se deba a (a) interferencia no específica sobre la evocación de la memoria aversiva o (b) respuestas motoras condicionadas incompatibles con la expresión de la aversión condicionada.

Los efectos apetitivos y aversivos no agotan las consecuencias motivacionales del etanol. Esta droga también posee la capacidad de reducir sensaciones displacenteras y/o estados ansiógenos (Wilson y cols., 2004). Estas propiedades ansiolíticas modulan, por mecanismos de reforzamiento negativo, los procesos de iniciación y mantenimiento de consumo de psicotrópicos. El estudio de estos fenómenos en ratas infantiles se habría visto dificultado ya que las técnicas comunmente empleadas en adultos no son adecuadas durante la temprana infancia, tanto por la longitud de las mismas como por obvias diferencias en relación a las capacidades perceptuales y comportamentales de los infantiles. Estas limitaciones nos obligaron a diseñar preparaciones novedosas, adecuadas para la evaluación de estas propiedades en infantiles de rata. En un primer experimento (Pautassi y cols., 2005a) observamos que el etanol podía modular la adquisición de aprendizajes aversivos. Específicamente, una aversión condicionada olfativa -- inducida por un EI no farmacológico -- era inhibida cuando los sujetos adquirían el aprendizaje bajo los efectos del etanol. Este efecto no parecía obedecer a efectos detrimentales de la droga sobre las capacidades sensoriales o de aprendizaje de los animales: dosis bajas (0,25 g/kg) inhibían claramente el aprendizaje aversivo; los animales administrados con dosis mas elevadas (1,25 g/kg), en tanto, mostraban similar magnitud de respuesta aversiva que controles administrados con vehículo. Los resultados se explicaban mejor por una interacción entre las propiedades motivacionales del etanol, probablemente ansiolíticas, y el aprendizaje en curso. Los efectos postabsortivos del etanol debilitaban la capacidad del EI para inducir respuestas condicionadas aversivas. Si bien, este acercamiento al estudio de los efectos ansiolíticos tempranos del etanol planteaba varios problemas: los efectos incondicionales del etanol actuaban no sólo sobre la representación hedónica del EI sino también sobre el EC, sobre el lazo asociativo que estos dos estímulos mantienen e incluso sobre el procesamiento del contexto donde este aprendizaje tiene lugar. Considerando estas limitaciones, diseñamos una estrategia alternativa, que comparte las características de un procedimiento de reevaluación del EI (Kraemer y cols., 1992). La magnitud de una memoria aversiva, derivada de la asociación entre un EC y un EI, no es inmutable. Luego de su adquisición, apareamientos entre el EI original y EI alternativos de similar o opuesto valor afectivo derivan en una respuesta condicionada de mayor o menor magnitud (i.e., inflación y devaluación, respectivamente). Este abordaje fue empleado para indagar posibles efectos ansiolíticos del etanol. Ratas de 14 días fueron entrenadas en un condicionamiento aversivo definido por la presentación contigua de un olor distintivo (limón, EC) y la infusión intrabucal de un sabor (ácido cítrico, EI). En el DP 15, los animales fueron expuestos brevemente a la solución sávida mientras experimentaban los efectos

iniciales de dosis variables de etanol (intervalo postadministración 510 fase devaluatoria). Posteriormente, se evalúa la preferencia por el EC en una prueba de preferencia de dos vías. La asociación entre el olor y la solución sávida indujo una respuesta de evitación hacia el limón en sujetos administrados con vehículo durante la fase devaluatoria. Esta respuesta condicionada aversiva fue significativamente atenuada en sujetos administrados con etanol (0.25, 0.5 y 1.25 g/kg, NAS 17-70 mg%). Estos resultados indican que el alcohol reduce respuestas de miedo condicionado, actuando sobre la representación del EI que participa en dicho aprendizaje, presumiblemente a partir de sus propiedades ansiolíticas (Pautassi y cols., 2006a; 2007). Este es uno de los primeros trabajos que presenta evidencia de la existencia de dichos efectos en organismos jóvenes (véase también Engel y Hard, 1987). El paradigma de devaluación también fue sensible para detectar efectos motivacionales bifásicos del etanol en infantes. En dosis elevadas, la capacidad del etanol para reevaluar la memoria aversiva olfativa no fue homogénea durante el transcurso del proceso tóxico. Cuando, luego de la fase de entrenamiento, los animales eran reexpuestos al ácido cítrico en simultaneidad con el inicio del estado tóxico etílico (2,5 g/kg, NAS: 176 mg%) no se observaban cambios en la magnitud del aprendizaje aversivo. Cuando dicho apareamiento tomaba lugar 25-30 min post-administración, los sujetos exhibían una acentuación (i.e inflación) en la magnitud de la respuesta condicionada. Es decir, empleando dosis elevadas, los momentos iniciales y tardíos del proceso postadministración difieren en su capacidad hedónica. (Pautassi y cols., 2006a).

La técnica devaluatoria y los estudios derivados de ella fueron generados en cooperación con en el Center for Developmental Psychobiology (SUNY at Binghamton, USA). Posteriormente hemos recreado dicha técnica junto a los Drs. Spear, Nizhnikov y Boehm para indagar los mecanismos subyacentes a estos tempranos efectos ansiolíticos etílicos (Pautassi y cols., 2007). Cuando las ratas infantes son separadas del nido materno emiten vocalizaciones ultrasónicas (Vus). Estas son consideradas un índice de la ansiedad inducida por la separación y pueden ser reducidas por la administración de drogas ansiolíticas (Engel y Hard, 1987). Una primera fase de nuestro trabajo comprara la capacidad del etanol (0.5 g/kg) y de dosis variables de un agonista gabaérgico de acción rápida (midazolam, MDZ) para reducir estas vocalizaciones. La administración de 0,5 g/kg etanol y 0,09 mg/kg MDZ indujo similar reducción en la emisión de Vus. Una vez equiparadas en este índice, indagamos la capacidad de estas drogas para atenuar la expresión de una respuesta condicionada aversiva en el paradigma devaluatorio. Nuestro objetivo era evaluar si los efectos ansiolíticos del etanol --en el contexto de la técnica de devaluación-- estaban mediatizados por el sistema gabaérgico. La fase de entrenamiento fue definida por la infusión de ácido cítrico en un recinto odorizado con limón. Un día mas tarde, los animales fueron expuestos brevemente al EI ácido luego de recibir etanol (0,5 g/kg) o MDZ (0,09 o 0,18 mg/kg). En una prueba de preferencia posterior los sujetos administrados con EtOH exhibieron total inhibición De la respuesta condicionada aversiva. Los sujetos administrados con MDZ, en tanto, mostraron similares niveles de evitación al limón que

controles administrados con vehículo. Es decir, las capacidades devaluatorias del etanol no fueron compartidas por MDZ, sugiriendo que los efectos del etanol en esta prueba no son mediados por el sistema GABA y, posiblemente, recluten sistemas alternativos de neurotransmisión (i.e., glutamatérgico).

Los resultados descriptos hasta el momento indican que la rata infante es altamente sensible a los atributos hedónicos aversivos del etanol (Pautassi y cols. 2002a), expresando respuestas condicionadas gustativas aún cuando dosis relativamente bajas de la droga son empleadas (0,5 g/kg) y tras manipulaciones que, en adultos, son efectivas en términos de reducir el poder motivacional aversivo de la droga (Pautassi y cols. 2005b). Las crías son también capaces de percibir efectos ansiolíticos derivados de dosis bajas de la droga (Pautassi y cols. 2005a, 2006a, 2007) y pueden establecer múltiples asociaciones entre los estímulos que son presentados durante el transcurso del proceso postadministración. La contigüidad diferencial entre claves táctiles y gustativas y momentos tardíos de dicho proceso provee condiciones para la adquisición de información inhibitoria y excitatoria, respectivamente, en relación a los efectos aversivos de la droga (Pautassi y cols., 2001, Pautassi y cols. 2002a). Sin embargo, hasta el momento no habíamos encontrado evidencias que el etanol indujera aprendizajes de carácter apetitivo en la rata infante.

En la rata adulta generalmente no se observan aprendizajes apetitivos derivados de condicionamientos de primer orden entre claves sensoriales y efectos postabsortivos de la droga. Los efectos de este proceso asociativo son predominantemente aversivos (Cunningham y cols., 1992). Similares resultados habíamos encontrado en los estudios hasta ahora reseñados: los infantes adquirían o bien aversiones hacia claves asociadas al etanol o aprendizajes inhibitorios en relación a dichos condicionamientos excitatorios aversivos. ¿Indicaban estos resultados la ausencia de efectos apetitivos en estos animales? O bien podíamos estar en presencia de una falta de sensibilidad de nuestras técnicas? Evidencia convergente sugería que, bajo ciertas circunstancias, los infantes podían ser particularmente sensibles a los efectos apetitivos del etanol. En pruebas denominadas de consumo independiente (Truxell y cols., 2004) estos animales ingieren altas cantidades de etanol sin que medien procesos de iniciación. Asimismo, Petrov y colaboradores (2001) habían detectado aprendizajes apetitivos neonatales mediados por dosis bajas de etanol. Estos antecedentes motivaron el desarrollo de dos preparaciones alternativas para analizar las capacidades reforzantes del etanol en infantes. La primera se basa en un paradigma de condicionamiento de segundo orden (CSO, Rescorla, 1980), en tanto que la segunda emplea una versión modificada del condicionamiento de preferencia al lugar. (CPL, Cunningham y Noble, 1992). A continuación se describen los principales hallazgos obtenidos mediante las mismas:

En un CSO el cambio en la conducta mediado por el apareamiento entre un EC1 y un EI no se evaluó por exposición directa al EC1; sino que se indaga la capacidad de este EC1 para transferir información y control comportamental a un estímulo neutro alternativo (EC2). Si el aprendizaje

original fue exitoso, el EC2 será capaz de inducir una respuesta condicionada. Este procedimiento podía ser particularmente apropiado para nuestros propósitos. El CSO es inútil para detectar asociaciones silentes (i.e., no detectables mediante asociaciones de primer orden) e, importantemente, minimiza los efectos de RCs asociadas, por ejemplo de tipo motoras (Cunningham & Noble, 1992), que podrían competir con la respuesta bajo análisis. En nuestro experimento, los infantes (DP 14) fueron estimulados intraoralmente con pulsos de agua (EC1) durante la fase temprana (5-20 o tardía (30-45 del proceso tóxico etílico (0,5 o 2,0 g/kg). En el DP 15, los animales fueron brevemente expuestos al EC1 mientras permanecían sobre un estímulo táctil distintivo (papel de lija, EC2). Finalmente, se evaluó la preferencia por el EC2 en una prueba de preferencia de dos vías (lija vs. estímulo táctil novel). Se examinaron también respuestas locomotoras, térmicas, farmacocinéticas y hormonales (i.e., liberación de corticosterona) que podrían subyacer a la adquisición del aprendizaje. Los animales que habían recibido el EC1 apareado a los efectos tempranos o tardíos de la dosis baja de etanol [0,5 g/kg, NAS: 40 mg%], o a los efectos iniciales de la dosis más elevada (2,0 g/kg; NAS: 157-200 mg%) exhibieron preferencias condicionadas por el EC2 (lija), en relación a grupos controles no apareados. Interesantemente, las crías evitaban la lija cuando el EC1 había sido apareado durante el intervalo postadministración 30-45 inducido por 2,0 g/kg de etanol. Estos datos (Molina, Pautassi y cols., 2007) indicaron que los infantes son sensibles a los efectos apetitivos del etanol. Asimismo, confirmamos que la droga posee, a dosis elevadas, efectos bifásicos en el plano motivacional. Estos últimos resultados proveen validez convergente a las conclusiones previamente obtenidas mediante las técnicas de aprendizaje inhibitorio y de devaluación (Pautassi y cols., 2002a; 2006a). Las respuestas motoras, térmicas y hormonales asociadas al estado etílico no estuvieron asociadas al patrón de preferencia obtenido en el CSO. Este fue uno de los primeros trabajos en demostrar preferencias condicionadas mediadas por el etanol en este estadio del desarrollo. Estos estudios proveen un paradigma que puede emplearse a lo largo del desarrollo, sirviendo para los propósitos de estudios comparativos ontogenéticos. De hecho, actualmente hemos comenzado a aplicar el CSO en ratas adolescentes y adultas. Este proyecto se realiza bajo la dirección de Linda Patia Spear (SUNY, USA), especialista en la reactividad del organismo adolescente frente a drogas de abuso. Resultados preliminares indican que las ratas adolescentes (DP32), pero no así las adultas (DP70), expresarían efectos apetitivos del etanol (0,5 o 2.0 g/kg, i.g, rango de NAS: 50-200 mg%.) al ser evaluadas en un CSO.

Recientemente hemos también desarrollado, en ratas infantes, una preparación basada en condicionamiento de primer orden, la cual se ha mostrado sensible a los efectos apetitivos del etanol (Pautassi y cols., 2008a). Específicamente, las crías recibieron infusiones intraorales de etanol en forma intermitente, derivando en la administración de 0.5 g/kg/10 min. En comparación con los tradicionales métodos de inyección intragástrica o intraperitoneal, la infusión oral de etanol posee mayor relevancia para modelar el patrón de autoadministración etílico que se observa en humanos. En

el inicio del proceso post-absorptivo (cuando los niveles de etanol en sangre se encuentran en ascenso) los animales fueron expuestos a un estímulo condicionado táctil (EC, papel de lija). Grupos controles fueron expuestos tanto al EC como a la infusión intraoral de etanol de manera explícitamente no apareada. Veinticuatro horas mas tarde, una prueba de preferencia táctil de dos vías indicó la expresión de preferencia condicionada hacia el EC que había sido apareado a los efectos post-ingestivos del etanol.

En los paradigmas de condicionamiento que habíamos empleado el etanol es administrado de manera forzada, estableciéndose contingencias entre los efectos de la droga y estímulos salientes. La expresión de aprendizajes mediados por el etanol se evaluó en función de la posterior reactividad hacia dichos EC. Estos paradigmas poseen una elevada capacidad analítica, permitiendo variaciones sistemáticas en dosis y relación temporal entre EC? y EI?. Sin embargo, los mismos difirieren marcadamente del patrón voluntario de autoadministración oral observado en humanos. Debido a factores farmacokinéticos y farmacodinámicos (Ej.: diferentes NAS y tasas de acumulación de la droga) la ruta de administración ejerce poderosos efectos en las consecuencias comportamentales del etanol, así como en otras drogas de abuso (Kuczenski y Segal, 2005). Se ha sugerido también que la auto-administración oral de etanol induce consecuencias motivacionales diferenciales en relación a la administración forzada de la droga (Sanders y Spear, 2007). Por lo tanto, nos propusimos generar un modelo animal de auto-administración oral de etanol durante la temprana ontogenia de la rata. Específicamente, nuestro objetivo era crear dispositivos experimentales en los cuales el acceso al etanol dependiera de la ejecución de un criterio comportamental arbitrario. Los modelos operantes disponibles en adultos usualmente involucran la presión de una palanca y requieren un largo período de pre-entrenamiento y/o moldeamiento, lo que dificulta su traslado a la temprana ontogenia. En una primera fase creamos una preparación que no requiere moldeamiento y que puede emplearse a lo largo de la ontogenia. Específicamente, las ratas infantiles (DPs 14-17) eran entrenadas en cajas equipadas con un sensor específico (similar a una moneda) localizado sobre el piso. Durante cada sesión diaria, cada contacto con el sensor tenía como resultado la infusión intraoral de una pequeña cantidad de etanol (5 ul, concentración: 3 o 5 % v/v). Los infantiles mostraron una aversión al etanol, evidenciada por un menor número de contactos con el sensor, en relación a animales controles que recibían una cantidad equivalente de infusiones de etanol, pero de forma no contingente con su conducta b) un decremento progresivo en su auto-administración de etanol y c) menor tiempo en la cercanía del sensor que animales controles. Este patrón de evitación fue particularmente claro en un experimento en el cual se establecieron sesiones diarias no reforzadas en las cuales los animales eran habituados al ambiente experimental. (Pautassi y cols., 2008b). Presumiblemente, este aprendizaje aversivo se derive de la asociación entre la conducta operante y las propiedades orosensoriales aversivas del etanol (i.e., sabor, olor, estimulación trigeminal). Con el objetivo de aminorar estos efectos (y, potencialmente, permitir la expresión de efectos apetitivos de la droga), llevamos a cabo una segunda

serie experimental, en la cual introducimos un nuevo modelo de auto-administración operante. La tarea asociada a la administración intraoral de etanol (25 μ l) consistió en introducir la cabeza en un orificio situado en una esquina de la caja experimental. Esta conducta (conocida también como hociqueo posee una tasa basal relativamente baja, lo que la hace apta para ser manipulada por contingencias operantes. En un primer experimento empleamos una adaptación del paradigma de sustitución progresiva de sacarosa por etanol (Samson y cols., 1988), el cual se ha mostrado exitoso para inducir, en unas pocas semanas, consumo de altas concentraciones de etanol en ratas adultas. Específicamente, durante los días postnatales 14 a 17 la conducta de hociqueo podía ser recompensada con sacarosa (12%) o sacarosa mezclada con etanol (6%). Grupos adicionales recibían también sacarosa y etanol en una solución mixta, pero en concentraciones variables a lo largo de los días de entrenamiento. Se observó la expresión de aprendizaje operante cuando el reforzador consistió en soluciones relativamente puras de sacarosa. Sin embargo, el hociqueo disminuía drásticamente cuando el reforzador era contaminado con etanol. La reducción fue particularmente evidente en aquellas soluciones y sesiones en que el etanol estaba menos enmascarado por la sacarosa (Ponce y cols., 2006). Es decir, los datos nuevamente indicaban que las propiedades aversivas orosensoriales del etanol funcionaban como una barrera sensorial impidiendo detectar potenciales efectos apetitivos de la droga y contrarrestando las propiedades apetitivas de reforzadores naturales.

Los experimentos descriptos en la última sección nos indicaban que, cuando se emplean paradigmas operantes de auto-administración, los infantes evalúan aversivamente el olor y el sabor del etanol intraoral. Sin embargo, el patrón de auto-administración observado en humanos sugiere que el consumo oral de la droga ejerce, al menos bajo ciertas circunstancias, efectos apetitivos reforzantes que contrarrestan esta barrera sensorial. Asimismo, los niveles mínimos de consumo étlico registrados en el experimento previo fueron equivalentes a 0,46 g/kg; similares a las dosis que ejercieron efectos apetitivos en el CSO. En una serie experimental posterior (Ponce y cols., 2007; en revisión) aplicamos procedimientos de pre-exposición, con el objetivo de que los mismos atenúan los efectos sensoriales aversivos y permitan aflorar potenciales efectos reforzantes apetitivos de la administración oral de etanol. En esta ocasión, la fase de entrenamiento fue precedida por una exposición intraoral pasiva a la droga (7.25 % v/v), la cual induce NAS de aproximadamente 150 mg %. Durante los DPs 14-17 la conducta de hociqueo fue reforzada con la infusión intraoral de etanol (7,5 o 3,75%) o vehículo (0,0%, agua destilada). La infusión intraoral de 3.75% etanol pero no de 0,0 o 7,5 % -- indujo niveles de hociqueo significativamente mayores que en grupos controles no apareados, particularmente hacia el final del entrenamiento (NAS mínimos: 50 mg%). Interesantemente, la pre-exposición pasiva a la droga parece ser un requisito necesario para la expresión de este aprendizaje. En un experimento posterior (Ponce y cols., 2007, en revisión) se emplearon grupos que podían ser pre-expuestos al etanol o a su vehículo. Los animales preexpuestos al etanol nuevamente elevaron la probabilidad de la conducta de hociqueo cuando esta estaba asociada al acceso a la droga; dicho efecto fue menor en

animales infundidos con vehículo durante la preexposición. Interesantemente, los efectos de la preexposición etílica persisten hasta la adolescencia. Los animales derivados del experimento anterior fueron evaluados durante la adolescencia (DPs 30-33) en ingesta de etanol en una prueba de consumo libre de dos vías. Las ratas tenían acceso libre a agua y a una determinada solución de etanol dos horas por días (3% el primer día; 1% de incremento diario). Las ratas entrenadas con etanol durante la fase de entrenamiento operante infantil y con una historia previa de pre-exposición pasiva a la droga exhibieron mayores niveles de ingesta que sus controles. Estos resultados indican que a) la preexposición infantil al etanol permite la expresión de efectos apetitivos de la droga en una tarea operante y b) estas exposiciones tempranas a la droga alteran significativamente el perfil de ingesta adolescente, un resultado concordante con trabajos previos realizados en poblaciones humanas. La familiarización con las propiedades sensoriales del etanol, el desarrollo de tolerancia a los efectos aversivos y/o la sensibilización a efectos apetitivos de la droga pueden ser los factores que, independiente o combinadamente, subyacen a los efectos encontrados.

En otros estudios de relevancia y Junto al Dr. Arias (actualmente docente de la cátedra de Psicobiología de nuestra casa) evaluamos los mecanismos subyacentes a la adquisición de aversiones adquiridas al sabor en ratas infantiles. La administración de un antagonista dopaminérgico con propiedades antieméticas periféricas (domperidona, DOM) inhibió la expresión de respuestas comportamentales condicionadas evocadas por la infusión intraoral de un EC gustativo, previamente asociado al malestar inducido por cloruro de litio o etanol (2,5 g/kg). DOM no tuvo efectos sobre la supresión en la ingesta del EC (Pautassi y cols., en prensa; Arias y cols., 2007). Estos resultados indican una temprana disociación entre los diferentes índices de expresión de aversiones adquiridas al sabor y sugieren que la activación de los centros eméticos del tronco cerebral subyace a la adquisición de la aversión condicionada mediada por el etanol en infantes de rata.

La reactividad infantil y adolescente frente al etanol también es afectada por exposiciones indirectas, mediadas por el consumo materno de etanol durante el embarazo y la lactancia. Para analizar estos fenómenos empleamos animales derivados de madres que habían sido administradas con etanol durante la preñez (2,0 g/kg, días gestacionales 17-20). En el DP 14, estas crías fueron entrenadas en el paradigma de aprendizaje táctil/gustativo mediante el cual habíamos detectado efectos bifásicos del etanol (Pautassi y cols., 2002a). Nuevamente observamos la expresión de condicionamiento aversivo-gustativo y su inhibición por la clave asociada a la parte inicial del proceso tóxico. Ninguno de estos fenómenos fue afectado por la exposición etílica prenatal (Pautassi y cols., 2001). En una serie de experimentos realizados en colaboración con el Dr. Luciano Ponce (Cátedra de Escuelas y Corrientes de la Psicología Contemporánea), analizamos también las capacidades motoras infantiles y el consumo de etanol durante la adolescencia en ratas que habían sido criadas por madres intoxicadas crónicamente con EtOH. Operacionalmente, las ratas fueron criadas por hembras que eran administradas con etanol (2,5 g/kg; i.g.) o agua durante los DPs 3, 5, 7, 9, 11 y 13 (una administración

diaria). Durante la infancia o en la adolescencia estas ratas fueron evaluadas en una prueba de coordinación motora. Durante los DPs 30-33 los animales tuvieron acceso a concentraciones variables de etanol (3, 4, 5 o 6% v/v) o agua. Los animales que habían sido criados por madres intoxicadas con etanol exhibieron severos déficits motores tanto en la infancia como en la adolescencia. Interesantemente, la administración etílica durante la crianza también estuvo asociada a significativos incrementos en la ingesta adolescente de etanol (Ponce, Pautassi y cols., 2004). Los resultados indican que la crianza por una madre intoxicada con etanol afecta la capacidad motora y modula el patrón de ingesta de etanol en la adolescencia. En posteriores experimentos (Ponce y cols., 2004a) observamos déficits motores aún en ratas criadas por madres administradas con dosis bajas de etanol (0,5-1,5 g/kg).

Sección II: Resultados del actual proyecto de Investigación

Ejecutamos un programa de investigación que indaga, mediante el uso de un modelo animal de rata, factores de vulnerabilidad vinculados con el consumo exacerbado de alcohol (i.e., la sustancia también denominada etanol) durante la adolescencia. Fueron objetivos específicos analizar las propiedades motivacionales del etanol en ratas adolescentes, la relación entre este perfil motivacional y la afinidad por la ingesta de etanol, y la posible existencia de diferencias de sexo en relación a estos fenómenos.

Una intención del proyecto era detectar marcadores biológicos (i.e., fenotipos comportamentales) que permitan discriminar poblaciones a riesgo de exhibir una mayor afinidad por el consumo y reforzamiento mediado por el etanol. Esto es, el aprendizaje motivacional mediado por el etanol y su consumo podrían estar modulados por características preexistentes en los organismos, como por ejemplo la magnitud de la activación motora inducida por alcohol. La activación motora inducida por las drogas de abuso se considera un índice de las propiedades motivacionales apetitivas de estas sustancias. La racionalidad es que ambos fenómenos compartirían un mismo mecanismo biológico, la activación opioide-dependiente de la vía mesocorticolímbica dopaminérgica. Así entonces, la estrategia involucraba evaluar a ratas adolescentes de manera secuencial en (1) actividad motora espontánea e inducida por alcohol, (2) en pruebas de aprendizaje motivacional con etanol (condicionamiento de preferencia al lugar y aversión adquirida al sabor, CPL y AAS, respectivamente) y (3) en pruebas de ingesta de alcohol.

Esta estrategia fue ejecutada en diferentes experimentos, en los cuales evaluamos actividad motora en ratas adolescentes (día postnatal 28, DP 28) luego de la administración de etanol (0, 0.5, 2.5 o 3.0 g/kg, ig); durante los tiempos post-administración 5-10 o 305 min. La dosis mayor, pero no la menor, indujo activación durante el intervalo inicial -- pero no en el más tardío-- del proceso tóxico. La activación resulta similar en machos y en hembras; y fue específica para locomoción horizontal, no encontrándose alteraciones en conductas verticales (wall-climbing). La variabilidad obtenida en los

puntajes, asimismo, fue utilizada para dividir a los animales en grupos de alta (AR) o baja (BR) respuesta motora, empleando como criterio de separación la mediana de actividad inducida por el etanol. Estos animales fueron luego evaluados en pruebas de consumo de alcohol de doble botella y de acceso forzado. Los sujetos que habían sido expuestos al alcohol durante la adolescencia temprana (DP28) consumieron mas alcohol que aquellos que sólo habían recibido vehículo (0.0 g/kg). Quizás más importante, los adolescentes altos respondedores (AR) en la prueba de actividad inducida por alcohol exhibieron un consumo de alcohol significativamente mas elevado que los bajos respondedores (BR) y que aquellos que solo habían recibido vehículo, un efecto que fue mas pronunciado en las hembras. Esto indica que (a) la exposición al alcohol durante la temprana adolescencia aumenta la afinidad posterior por esta droga y que (b) ciertas sub-poblaciones de sujetos --- aquellos con mayor respuesta a los efectos estimulantes de la droga -- son particularmente sensibles a los efectos facilitadores de la exposición etílica temprana sobre el consumo posterior. Estos resultados fueron presentados en congresos nacionales (Pautassi, 2009; Acevedo et al., 2009) e internacionales (Pautassi, 2009) y dieron lugar a un artículo (Acevedo y cols., 2010).

En posteriores experimentos replicamos la evaluación de actividad motora inducida por etanol el DP28 y, unos días más tarde (DPs 30-35), entrenamos a esos animales en condicionamiento aversivo o apetitivo mediado por etanol [procedimientos de aversión adquirida al sabor (AAS) y condicionamiento de preferencia al lugar (CPL), respectivamente]. Observamos el rechazo de una sustancia gustativa (sacarina, estímulo condicionado, EC) que había sido apareada a los efectos post absorptivos del alcohol, resultado indicativo de aversión condicionada mediada por la droga. También observamos -- en un grupo diferente de animales -- condicionamiento de preferencia al lugar, resultado que posee particular importancia, ya que la expresión de CPL inducido por alcohol raramente ha sido observada en ratas, y solo ocasionalmente en ratas adolescentes. El procedimiento de CPL fue derivado de estudios concurrentes en infantes (Nizhnikov, Pautassi y cols., 2009a, 2009b, se describen abajo). La pre-exposición al alcohol en el DP28 redujo la aversión pero no tuvo efectos sobre el aprendizaje apetitivo. La actividad motora basal, pero no la inducida por el etanol, tuvo relación con el monto de AAS y CPL: cuanto mayor fue la actividad basal tanto menor fue la AAS y mayor fue el CPL (Acevedo et al., 2009).

Nos habíamos propuesto realizar comparaciones explícitas entre adolescentes y adultos en relación a reforzamiento inducido por etanol. En un reciente experimento observamos que la activación inducida por alcohol en un campo abierto no difería significativamente entre ambas edades. En este experimento también analizamos si la exposición a estrés inducido por aislamiento (120 horas) alteraba esta respuesta activadora. La exposición a fuentes de stress constituye un factor de vulnerabilidad para el desarrollo de problemas con el alcohol, ya que puede sensibilizar a los efectos reforzantes de las drogas de abuso. Nuestra hipótesis era que los adolescentes expuestos al

aislamiento, pero no así los adultos, exhibirían una respuesta motora exacerbada al ser administrados con etanol. Esta expectativa, sin embargo, no pudo corroborarse.

Los resultados obtenidos en el artículo de Acevedo y cols. (2010), dieron lugar a una continuación del proyecto original. Esta continuación tiene como objetivo modelar y analizar los efectos facilitadores que el consumo adolescente de alcohol ejerce sobre los posteriores patrones de aceptación de la droga (efecto de debut temprano; Pedersen & Skrondal, 1998). Un objetivo específico es analizar factores ambientales estresantes que pueden exacerbar o inhibir este fenómeno. En experimentos separados hemos observado que tanto una breve exposición al etanol en la adolescencia temprana (administraciones individuales los DPs 28 y 32, 2.5 g/kg ig) como la exposición a estrés social (operacionalizada por 4 o 5 días de aislamiento) aumenta la disposición a consumir etanol más tarde en la adolescencia (Fabio, Acevedo, Pautassi, 2009; Pautassi, Fabio y Acevedo, 2009). Posteriores experimentos evaluarán la posible interacción entre ambos factores y analizarán si la exposición en períodos más tempranos (gestación tardía, siguiendo el modelo empleado por Abate y cols., 2001) afectan la afinidad adolescente por la droga.

El procedimiento de CPL empleado en adolescentes (Acevedo et al., 2009) fue derivado de una serie de trabajos realizados en cooperación con investigadores de la State University of New at Binghamton (SUNY). Previamente, nuestros esfuerzos por encontrar preferencia hacia texturas apareadas a los efectos del alcohol en infantes habían sido infructuosos (e.g., Pautassi et al., 2002; 2005). Asentonces, en nuestros nuevos trabajos evaluamos un conjunto amplio de factores (vía de administración, dosis, presencia o ausencia de ECs inhibitorios, etc.) que podían favorecer la expresión de estos aprendizajes. Las hipótesis eran que el CPL se expresaría a dosis etílicas bajas (≤ 1.0 g/kg) y cuando el apareamiento entre los ECs y el etanol capture el momento inicial del proceso post-administración. Los resultados, que derivaron en sendas publicaciones en revistas con referato, apoyaron estas hipótesis, encontrándose CPL inducido por 1.0 g/kg etanol -- pero no 0.5 o 2.0 g/kg -- y solo cuando el condicionamiento tenía lugar durante la curva ascendente de los niveles de alcohol en sangre (Nizhnikov, Pautassi y cols., 2009). Similares resultados fueron obtenidos cuando empleamos la inhalación de vapor etílico como vía de administración de la droga (para una descripción de las razones de elección de esta vía, véase Nizhnikov, Pautassi, et al., 2009). La inhalación intermitente de etanol, asociada a niveles de alcohol en sangre (NAS) moderados (~15 mg%), indujo preferencia condicionada, particularmente en sujetos con una historia previa de exposición a la droga. En cambio, aquellos que habían recibido ensayos de condicionamiento más extensos que resultaban en NAS más elevados (~55 mg%) mostraron aversión condicionada (Nizhnikov, Pautassi, et al., 2009). Junto al Dr. Dr. Arias indagamos los mecanismos subyacentes a esta capacidad del etanol para inducir aprendizaje aversivo. Encontramos que la exposición a un EC gustativo que había sido apareado al etanol (dosis: 2.5 g/kg) inducía un patrón de respuesta orofaciales aversivas cuali y cuantitativamente indistinguible del inducido por un EC que predecía la intoxicación por el emético cloruro de litio. Estos resultados

sugieren que la capacidad del etanol para inducir AAS esta relacionada, al menos a dosis elevadas, con la activación de los centros eméticos del tronco cerebral (Arias, Pautassi et al., en prensa). La capacidad aversiva y apetitiva del etanol fue también evaluada mediante una técnica de reevaluación del estímulo condicionada. En este trabajo (Culler Pautassi et al., 2009) observamos que el etanol puede inflar o devaluar la capacidad reforzante de otro estímulo incondicionado.

También en colaboración con investigadores de SUNY hemos empleado un procedimiento de condicionamiento de segundo orden (CSO) para comparar ratas adolescentes y adultas en aprendizaje motivacionales asociado a dosis elevadas de alcohol. El CSO es un procedimiento en que los animales reciben apareamientos entre una dosis de etanol y pulsos intrabucales de sacarosa o agua (EC1, primera fase del condicionamiento). Los animales son luego expuestos al EC1 mientras experimentan un estímulo táctil distintivo (papel de lija, EC2). Finalmente, se evalúa la preferencia por el EC2 en una prueba de preferencia de dos vías. Este procedimiento nos había sido ya útil para develar efectos apetitivos de dosis moderadas de alcohol en infantes (Molina, Pautassi et al., 2007) y adolescentes (Pautassi, Molina & Spear, 2008). En el trabajo realizado durante 2009 observamos que al emplear dosis elevadas de alcohol (3.0 3.25 g/kg.), el CSO también detecta condicionamiento aversivo en adolescentes y adultos (Myers, Pautassi et al., 2009; Pautassi et al., en revisión).

Referencias

- Abate, P.; Pueta, M.; Spear, N. E. & Molina, J. C. (2008), 'Fetal learning about ethanol and later ethanol responsiveness: evidence against "safe" amounts of prenatal exposure.', *Exp Biol Med (Maywood)* 233(2), 139--154.
- Abate, P.; Spear, NE & Molina, J. (2001), 'Fetal and infantile alcohol-mediated associative learning in the rat', *Alcohol Clin Exp Res* 25(7), 989--998.
- Acevedo MB, Nizhnikov ME, Spear NE, Molina JC, Pautassi RM. (2010) High ethanol dose during early adolescence induces locomotor activation and increases subsequent ethanol intake during late adolescence. *Developmental Psychobiology*. DOI 10.2002-dev2044.
- Acevedo, M.B., Molina, J.C. y Pautassi, R. (2009a) condicionamiento Aversivo en Ratas Adolescentes analizadas en Locomoción inducida por Etanol Trabajo presentado en la 12da Reunión Nacional y 1er Encuentro Internacional de la Asociación Argentina de Ciencias del Comportamiento (AACC), 27 al 29 de Agosto de 2009.
- Acevedo, M.B., Molina, J.C. y Pautassi, R. (2009b) Reactividad Locomotora inducida por Etanol en Ratas Adolescentes Trabajo presentado en la 12da Reunión Nacional y 1er Encuentro Internacional de la Asociación Argentina de Ciencias del Comportamiento (AACC), 27 al 29 de Agosto de 2009.
- Arias C, Pautassi RM, Molina JC, Spear NE. (aceptado, en prensa) A comparison between taste avoidance and conditioned disgust reactions induced by ethanol and lithium chloride in preweanling rats. *Developmental Psychobiology*.
- Arias, C.; Mlewski, E. C.; Molina, J. C. & Spear, N. E. (2009), 'Naloxone and baclofen attenuate ethanol's locomotor-activating effects in preweanling Sprague-Dawley rats.', *Behavioral Neuroscience*. Vol. 123, 172--180.
- Brasser SM, Mckinzie DL, Molina JC & Spear NE (1993) Ethanol intoxication promotes odor and texture aversions in the infant rat. Poster presentado en la 65ta. Reunión Anual de la Midwestern Psychological Association. Chicago, IL.
- Cheslock S, Varlinskaya E, Petrov ES, Silveri MM, Spear LP & Spear NE (2001). Ethanol as a reinforcer in the newborn? first suckling experience. *Alcohol Clin Exp Res* 25, 395-402
- Culler M.; Pautassi, R.; Ponce, L.; Abate, P. y Molina, J. C. (2009) "Análisis de las propiedades motivacionales del etanol en la rata infante, mediante esquemas de re-evaluación de un aprendizaje instrumental apetitivo". Trabajo presentado en la 12da Reunión Nacional y 1er Encuentro Internacional de la Asociación Argentina de Ciencias del Comportamiento (AACC), 27 al 29 de Agosto de 2009.

- Cunningham CL & Noble DC (1992). Conditioned Activation induced by ethanol: Role in sensitization and Conditioned Place Preference. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 43, 307-313.
- Cunningham CL, Niehus JS & Noble D (1993). Species difference in sensitivity to ethanol? hedonic effects. *Alcohol* 10, 97-102.
- Dominguez HD, Lopez MF, Molina JC (1998) Neonatal responsiveness to alcohol odor and infant alcohol intake as a function of alcohol experience during late gestation. *Alcohol* 16, 109-17.
- Doremus, T.; Brunell, S.; Varlinskaya, E. & Spear, L. (2003), 'Anxiogenic effects during withdrawal from acute ethanol in adolescent and adult rats', *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 75(2), 411--418.
- Engel J & Hard E (1987) Effects of diazepam, ethanol and Ro 15-1788 on ultrasonic vocalization, locomotor activity and body righting in the neonatal rat. *Alcohol Alcohol Suppl.* 1, 709-712.
- Fabio MC., Acevedo MB, Pautassi, RM (2009) "Una breve pre-exposición al alcohol durante la adolescencia aumenta significativamente la subsiguiente aceptación de esta droga". Trabajo presentado en la 12da Reunión Nacional y 1er Encuentro Internacional de la Asociación Argentina de Ciencias del Comportamiento (AACC), 27 al 29 de Agosto de 2009.
- Grant, B. F. & Dawson, D. A. (1997), 'Age at onset of alcohol use and its association with DSM-IV alcohol abuse and dependence: results from the National Longitudinal Alcohol Epidemiologic Survey', *Journal of Substance Abuse* 9, 103--10.
- Hargreaves, G. A.; Monds, L.; Gunasekaran, N.; Dawson, B. & McGregor, I. S. (2009), 'Intermittent access to beer promotes binge-like drinking in adolescent but not adult Wistar rats.', *Alcohol.*, Jun;43(4):305-14
- Herrera, D.G. y H.A. Robertson, Activation of c-Fos in the brain. *Progress in Neurobiology*, 1996. 50: p. 83-107.
- Jones KL, Smith DW, Ulleland CN & Streissguth AP (1973) Pattern of malformation in offspring of alcoholic mothers. *Lancet*, 2, 999-1001.
- Kraemer PJ, Hoffmann H, Randall CK & Spear NE (1992) Devaluation of Pavlovian conditioning in the 10-day-old rat. *Anim Learn Behav* 20, 219-222.
- Kuczenski R, Segal DS (2005) Stimulant Actions in Rodents: Implications for Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Treatment and Potential Substance Abuse. *Biol Psych* 57: 1391-96.
- Little RE, Anderson KW, Ervin CH, Worthington-Roberts B, Clarren SK (1989) Maternal alcohol use during breast-feeding and infant mental and motor development at one year. *New Engl J Med* 321, 425-430.
- Maestro, R. D. & McDonald, W. (1987), 'Distribution of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in developing rat brain.', *Mech Ageing Dev* 41(1-2), 29--38.
- Maestro, R. D. & McDonald, W. (1989), 'Subcellular localization of superoxide dismutases, glutathione peroxidase and catalase in developing rat cerebral cortex.', *Mech Ageing Dev* 48(1), 15--31.
- Cullere, RM Pautassi, LF Ponce, NE Spear, P Abate, JC Molina (2009) Low- And High-Ethanol Doses Shifts The Appetitive Hedonic Value Of A Natural Reinforcer In Infant Rats: Inflation And Deflation Effects (abstract). *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 33, Issue s1, p. 216A.
- Molina JC, Chotro MG, Dominguez HD (1995) Fetal alcohol learning derived from ethanol contamination of the prenatal environment. En: Lecanuet JP, Fifer WP, Krasnegor N, Smotherman WP (eds.) *Fetal development: A psychobiological perspective*. Lawrence Erlbaum Associates, Hillsdale, NJ, 419-438.
- Molina JC, Pautassi RM, Truxell E & Spear NE (2007) Differential motivational properties of ethanol during early ontogeny as a function of dose and postadministration time. *Alcohol* 41, 41-45.
- Myers, M, Pautassi RM, Nizhnikov, ME, Spear LP, Molina, JC & Spear, NE. (2009) High-Dose Ethanol Induces Second-Order Aversive Conditioning In Adolescent And Adult Sprague-Dawley Rats (abstract). *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 33, Issue s1, p. 217A.
- Nizhnikov, M, Pautassi, R.M., Spear, N.E. (2009a) Opioid antagonists block the acquisition of ethanol-mediated conditioned preference in infant rats. *Alcohol* 43, 347-358.
- Nizhnikov, M., Pautassi, Truxell E., R.M., Molina J.C., Spear, N.E. (2009b). Conditioned preferences and aversions in infant rats mediated through ethanol inhalation. *Alcohol* 43, 1-12.
- Parker LA (2003). Taste avoidance and taste aversion: evidence for two different processes. *Learning and Behavior* 31, 165-172.
- Pautassi RM (2009) Appetitive, Aversive And Negative Reinforcing Effects Of Ethanol In Infant Rats (abstract). *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 33, Issue s1, p. 283A.
- Pautassi RM, Acevedo MB, Ponce LF. (2009) Un modelo animal para el estudio de las propiedades motivacionales del alcohol: condicionamiento de primer y segundo orden en ratas infantiles, adolescentes y adultas. Richaud MC, Moreno JE (eds.) *"Investigación en Ciencias del Comportamiento: Avances Iberoamericanos"*, Tomo II, pps.941-967. Ediciones CIIPME-CONICET, Bs. As. ISBN 978-950-692-091-3.
- Pautassi RM, Camarini R, Quadros IM, Miczek K, Israel Y. (aceptado, en prensa) Determinants of Ethanol Consumption: From Genetic to Environmental Influences. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*.

- Pautassi RM, Godoy JC & Molina JC (2001). Unconditional Properties of ethanol during the course of an acute intoxication: Effects of prenatal ethanol exposition (Abstract), *Cell Molec Neurobiol* 21, pp.154.
- Pautassi RM, Godoy JC, Spear NE & Molina JC (2001). Alcohol-Mediated Taste Aversion in Infant Rats: Inhibitory effects of a stimulus paired with the onset of the state of intoxication. (Abstract) *Alcohol Clin Exp Res* Supplement to May, 25, 65A.
- Pautassi RM, Godoy JC, Spear NE & Molina JC (2002a) Early responsiveness to stimuli paired with different stages within the state of alcohol intoxication. *Alcohol Clin Exp Res* 26, 644-654.
- Pautassi RM, Melloni C, Ponce LF & Molina JC (2005a). Acute ethanol counteracts the acquisition of aversive olfactory learning in infant rats. *Alcohol* 36, 99-105.
- Pautassi RM, Molina JC, Truxell EM & Spear NE (2006b) Motivational Properties Of Ethanol In Preweanling Rats Assessed By Means Of A Novel Operant Learning Task. *Dev Psychobiol* 48, 622.
- Pautassi RM, Nizhnikov M, Boehm II S, Molina JC, Spear NE (2007) Differential Effects Of Ethanol And Midazolam Upon The Devaluation Of An Aversive Memory In Infant Rats. *Alcohol* 41, 421-431.
- Pautassi RM, Ponce LF, Spear NE & Molina JC (2002b) The Pharmacological consequences of Alcohol support inhibitory and excitatory aversive conditioning in infant rats (Abstract) *Alcohol Clin Exp Res* .Supplement to: May 2002, Vol.26, No. 5., pp. 151A
- Pautassi RM, Sanders S, Miller S, Spear NE, & Molina JC (2006a) Early ethanol? anxiolytic effects assessed through an unconditional stimulus revaluation procedure. *Alcohol Clin Exp Res* 30, 448-459.
- Pautassi, R. M.; Myers, M.; Spear, L. P.; Molina, J. C. & Spear, N. E. (2008) Adolescent but not adult rats exhibit ethanol-mediated appetitive second-order conditioning.', *Alcohol Clin Exp Res* 32(11), 2016--2027.
- Pautassi, R.; Ponce, L. & Molina, J. (2005), 'Effects of early exposure to ethanol on subsequent learning mediated by the unconditional attributes of the drug', *Latinamerican Journal of Psychology* 37(1), 149--166.
- Pautassi, R.M., Nizhnikov, Spear, N.E. (2009) Assessing appetitive, aversive, and negative ethanol-mediated reinforcement through an immature rat model. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 33, 953-974.
- Pautassi, RM, Arias, C., Molina J.C., Spear, N.E. (in press) Domperidone interferes with conditioned disgust reactions but not taste avoidance evoked by a LiCl-paired taste in infant rats. *Developmental Psychobiology*.
- Pautassi, RM, Molina J.C., Spear, N.E. (2008a) Infant Rats Exhibit Aversive Learning Mediated By Ethanol? Orosensory Effects But Are Positively Reinforced By Ethanol? Postingestive Effects. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 88, 393-402.
- Pautassi, RM; Acevedo MB; Fabio, MC (2009) "El inicio temprano en el consumo de alcohol como un factor de riesgo para el desarrollo de abuso y dependencia a la droga". Trabajo presentado en el VII Congreso Internacional de Prevención y Asistencia de la Drogadependencia. Internacional. Córdoba 8 al 10 de Octubre de 2009.
- Pedersen W. & Skrandal A. (1998) Alcohol consumption debut: predictors and consequences. *Journal of Studies on Alcohol* 59, 32-42.
- Petrov ES, Varlinskaya EI & Spear NE (2001) Self-Administration of Ethanol and Saccharin in Newborn Rats: Effects on Suckling Plasticity. *Behav Neurosci* 115, 1318-1331.
- Ponce LF, Pautassi RM, Spear NE & Molina JC (2004) Nursing from an ethanol-intoxicated dam induces short- and long-term disruptions in motor performance and enhances later self-administration of the drug. *Alcohol Clin Exp Res* 28, 7, 1039-1050.
- Ponce LF, Pautassi RM, Spear NE & Molina JC (2006) Ethanol Reinforcing Properties During Infancy In The Rat: Operant Self-Administration Of The Drug (Abstract) *Alcohol Clin Exp Res*. Supplement to: June, Vol.30, No. 6., pp. 186A.
- Puerta M, Pautassi R, Ponce L, Abate P y Molina JC (2005) Condicionamiento Instrumental durante la Temprana Ontogenia. Primeras evidencias del Patrón de Autoadministración de distintas Soluciones S?idas en el Neonato e Infante de Rata. X Reunión Nacional de la Asociación Argentina de Ciencias del Comportamiento (AACC), Facultad de Psicología, Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Quertemont, E.; Grant, K.; Correa, M.; Arizzi, M.; Salamone, J.; Tambour, S.; Aragon, C.; McBride, W.; Rodd, Z.; Goldstein, A.; Zaffaroni, A.; Li, T.; Pisano, M. & Diana, M. (2005), 'The role of acetaldehyde in the central effects of ethanol', *Alcoholism-Clinical and Experimental Research* 29(2), 221--234.
- Rescorla, RA (1980) *Second-Order Conditioning*. Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Risinger, F & Cunningham, CL (1995) Genetic Differences in ethanol-induced Conditioned taste aversion after ethanol preexposure. *Alcohol* 12, 535-539.
- Risinger, FO & Cunningham CL (1992) Ethanol produces rapid biphasic hedonic effects. In: P. Kalivas y H. Samson (Eds.) *The Neurobiology of drug and alcohol addiction*. *Ann N Y Acad Sci* 654, 506-508.
- Samson H, Pfeffer A & Tolliver G (1988) Oral Ethanol Self-Administration in Rats: Models of alcohol-seeking Behavior. *Alcohol Clin Exp Res* 12, 591-598.

- Sanders S & Spear NE (2007) Ethanol acceptance is high during early infancy and becomes still higher after previous ethanol ingestion. *Alcohol Clin Exp Res* 31:1148-58.
- Spear, N. & Molina, J. (2005), 'Fetal or infantile exposure to ethanol promotes ethanol ingestion in adolescence and adulthood: a theoretical review', *Alcohol Clin Exp Res* 29(6), 909--929.
- Stevenson, R. A.; Besheer, J. & Hodge, C. W. (2008), 'Comparison of ethanol locomotor sensitization in adolescent and adult DBA/2J mice', *Psychopharmacology (Berl.)* 197(3), 361--370.
- Truxell E., Spear, N.E. (2004). Immediate acceptance of ethanol in infant rats: Ontogenetic differences with moderate but not high ethanol concentration. *Alcohol Clin Exp Res* 28, 1200-1211.
- Wilson MA, Burghardt PR, Ford KA, Wilkinson MB & Primeaux SD (2004) Anxiolytic effects of diazepam and ethanol in two behavioral models: comparison of males and females. *Pharmacol Biochem Behav* 78, 445-458.