

ORIGINAL

Bloqueo del incremento en los efectos reforzantes de la cocaína inducidos por la derrota social: Efecto de la comida palatable

Blocking the increased reinforcing effects of cocaine induced by social defeat: Effects of palatable food

FRANCISCO RÓDENAS-GONZÁLEZ*,**; MARÍA DEL CARMEN BLANCO-GANDÍA***; EZEQUIEL MONFERRER*; MARÍA PASCUAL*,****,*****; MARTA RODRÍGUEZ-ARIAS*,*****.

* Unidad de Investigación en Psicobiología de la Dependencia a Drogas, Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universitat de València, Valencia, España.

** Grupo de Investigación en Psicología y Calidad de Vida (PsiCal), Universidad Internacional Valenciana, Valencia, España.

*** Departamento de Psicología y Sociología, Universidad de Zaragoza, Teruel, España.

**** Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universitat de València, Valencia, España.

***** Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones (RIAPAd), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), España.

Resumen

Los estudios preclínicos sugieren que la estimulación del sistema de recompensa cerebral mediante dietas ricas en grasa (DRG) podría actuar como un reforzador alternativo. El objetivo principal del presente estudio fue evaluar el efecto de una exposición limitada e intermitente a una DRG, administrada durante y después de la exposición a Derrota Social (DS), sobre una dosis no efectiva de la Preferencia de Lugar Condicionado (PLC) inducida por cocaína. El Experimento 1 consistió en modular los episodios de DS con tres patrones diferentes de acceso a la DRG: acceso de 1 hora antes de cada sesión de DS; acceso de 2 horas tres días a la semana durante las dos semanas de exposición a DS; y acceso de 2 horas, 4 horas después de cada DS. El Experimento 2 consistió en modular los efectos del estrés sobre la adquisición de la PLC con tres patrones de acceso a la DRG: acceso de 1 hora antes de cada sesión de condicionamiento; acceso de 2 horas tres días a la semana durante el período de dos semanas de la PLC; y acceso de 2 horas tres días a la semana desde el último episodio de DS hasta el final de la PLC. La DRG administrada durante el período de episodios de DS contrarrestó el aumento de la sensibilidad que la DS produce sobre los efectos reforzadores de la cocaína. El acceso a la DRG antes de la sesión de condicionamiento o tres días a la semana (PLC-DS-LXV) durante la adquisición del PLC bloqueó este aumento de sensibilidad. En el estriado, la DS indujo una disminución en la expresión génica del receptor cannabinoide tipo 1 (*Cb1r*), no afectada por la DRG, y un aumento en la expresión del gen del receptor 1 de la hormona liberadora de corticotropina (*Crh1*), excepto en los ratones alimentados con DRG después de los encuentros de DS. Nuestros hallazgos indican que una pequeña ingesta de DRG puede atenuar el aumento inducido por el estrés social en las propiedades reforzantes de la cocaína.

Palabras clave: derrota social, ratones machos, cocaína, dieta rica en grasa

Abstract

Preclinical studies suggest that stimulation of the brain's reward system by high-fat diets (HFD) could act as an alternative reinforcer. The main aim of the present study was to evaluate the effect of a limited and intermittent exposure to an HFD administered during and after exposure to Social Defeat (SD) on a non-effective dose of cocaine-induced Conditioned Place Preference (CPP). Experiment 1 consisted of modulating SD episodes with three different patterns of HFD access: 1h access before each session of SD; 2h access three days a week during the two weeks of SD exposure; and 2h access 4h after each SD. Experiment 2 consisted of modulating the effects of stress on CPP acquisition with three patterns of HFD access: 1h access before each conditioning session; 2h access three days a week throughout the two-week period of the CPP; and 2h access three days a week from the last SD episode to the end of CPP. HFD administered during the period of SD episodes counteracted the increased sensitivity that SD produces on the reinforcing effects of cocaine. Access to HFD before the conditioning session or three days a week (CPP-SD-MWF) during the acquisition of CPP blocked this increased sensitivity. In the striatum, SD induced a decrease in the cannabinoid 1 receptor (*Cb1r*) gene expression, not affected by HFD, and increased corticotrophin releasing hormone receptor 1 (*Crh1*) gene expression, except for those mice fed on HFD after SD encounters. Our findings indicate that a small intake of HFD may attenuate the social stress-induced increase in the rewarding properties of cocaine.

Key words: social defeat, male mice, cocaine, high-fat diet

■ Recibido: Julio 2025; Aceptado: Octubre 2025.

■ ISSN: 0214-4840 / E-ISSN: 2604-6334

■ Enviar correspondencia a:

Dra. Marta Rodríguez-Arias. Unidad de Investigación Psicobiología de las Drogodependencias, Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universitat de València, Avda. Blasco Ibáñez, 21, 46010 Valencia, España.
Tlf: + 34 963864637; Fax: + 34 963864668; E-mail: marta.rodriguez@uv.es.

El estrés es ampliamente reconocido como un factor central en el inicio, la progresión y la persistencia de las conductas adictivas (Buchanan y Lovallo, 2019; Burke y Miczek, 2015; Volkow y Blanco, 2023), desempeñando un papel crucial en el estado emocional negativo causado por la dependencia, que conduce tanto a la abstinencia de sustancias (Koob, 2009) como a episodios de recaída (Koob, 2010; Koob y Volkow, 2010). El estrés social destaca como un estresor particularmente significativo en los seres humanos, surgido de las relaciones interpersonales y del entorno contextual en el que se desarrollan los individuos (Carnevali et al., 2020; Dickerson y Kemeny, 2004). Dado el profundo impacto físico y psicológico del estrés social en humanos, se han establecido modelos animales, como el paradigma de derrota social (DS), para investigar sus consecuencias neurobiológicas (Miczek et al., 2008; Shimamoto, 2018). Los estudios preclínicos que utilizan el modelo de DS han revelado que la exposición al estrés social produce efectos duraderos (Wang et al., 2021), incluyendo una reducción en la conducta exploratoria y en la interacción social (Burke et al., 2011; Shimizu et al., 2020), un aumento de la ansiedad (Weathington y Cooke, 2012), un incremento del consumo de etanol (Arenas et al., 2025; Reguilón et al., 2020; Reguilón et al., 2021), y una mayor sensibilidad a las propiedades reforzantes condicionadas de psicoestimulantes como la cocaína, tanto en roedores adolescentes (Burke et al., 2016; Burke y Miczek, 2015; Rodríguez-Arias et al., 2018) como adultos (Ballestín et al., 2021; Ferrer-Pérez et al., 2018; Giménez-Gómez et al., 2021; Montagud-Romero et al., 2015; Montagud-Romero, 2016; Rodríguez-Arias et al., 2017).

El estrés también influye en los hábitos nutricionales. Los estudios clínicos indican que los individuos expuestos al estrés tienen más probabilidades de aumentar su consumo de alimentos altamente palatables (Kim et al., 2013; Kontinen, 2020; Linders et al., 2022), debido a sus propiedades de alivio emocional, que ayudan a mitigar el malestar psicológico (Dallman et al., 2003; Gemesi et al., 2022). De hecho, el consumo de dichos alimentos en humanos reduce los niveles plasmáticos de cortisol y la percepción de estrés (Herhaus et al., 2020; Leigh Gibson, 2006). Hallazgos paralelos en modelos animales muestran que los roedores bajo estrés crónico prefieren dietas ricas en grasa (DRG) sobre la dieta estándar (STD) (Packard et al., 2014; Pecoraro et al., 2004), atenuando así respuestas fisiológicas al estrés agudo, como la hiperactividad del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal (HHA) (Kalyani et al., 2016; Linders et al., 2022; Ulrich-Lai et al., 2011). Cabe destacar que un estudio previo de nuestro grupo demostró que los ratones aislados durante la adolescencia que fueron expuestos intermitentemente a DRG mostraron niveles significativamente menores de corticosterona en comparación con los controles aislados que recibieron únicamente dieta

estándar (Blanco-Gandía et al., 2018), sugiriendo un efecto amortiguador del estrés por parte de la comida palatable.

Por tanto, el estrés social aumenta las propiedades reforzantes tanto de los psicoestimulantes (Montagud-Romero et al., 2015; Peleg-Raibstein et al., 2016) como de las dietas palatables (Kim et al., 2013), potencialmente a través de mecanismos neurobiológicos compartidos. De forma similar a las sustancias adictivas, los alimentos hipercalóricos ricos en grasa y/o azúcar aumentan los niveles de dopamina en el núcleo accumbens (NAcc) (DiLeone et al., 2012; Pitman y Borgland, 2015), con la activación de varias estructuras clave del sistema de recompensa, como el área tegmental ventral (ATV), la corteza prefrontal y la amígdala (de Macedo et al., 2016; Volkow et al., 2013). Una creciente evidencia sugiere que las intervenciones dietéticas pueden influir en las respuestas a las drogas y en la vulnerabilidad a la adicción. Por ejemplo, la exposición a DRG modula la sensibilidad al alcohol y la cocaína, ya sea potenciando la respuesta de recompensa (Avena et al., 2008; Blanco-Gandía et al., 2017a; Blanco-Gandía et al., 2017b; Puhl et al., 2011) o funcionando como un refuerzo alternativo en estados emocionales negativos inducidos por la abstinencia de drogas (Blanco-Gandía et al., 2017c). De hecho, tanto la administración continua (Blanco-Gandía et al., 2017c) como la intermitente (Ródenas-González et al., 2021) de DRG durante la abstinencia de cocaína facilita el aprendizaje de extinción e inhibe la reinstauración de conductas de búsqueda de cocaína, además de reducir los síntomas conductuales de abstinencia (Loebens y Barros, 2003). Hemos observado previamente que el deterioro inducido por EtOH en la recuperación de la memoria espacial está ausente en ratones expuestos a acceso continuo o intermitente a DRG, aunque los déficits en la memoria aversiva persisten (Del Olmo et al., 2019). En relación con los trastornos por consumo de alcohol, el patrón de exposición a DRG y la condición de estrés parecen ser críticos. Los atracones prolongados o el acceso continuo a DRG durante la adolescencia aumentan los efectos reforzantes de EtOH (Blanco-Gandía et al., 2017b). Sin embargo, un estudio reciente sugiere que el acceso intermitente a DRG previene eficazmente el aumento inducido por el estrés en el consumo de etanol (Arenas et al., 2025). Estos resultados resaltan la estrecha relación entre DRG, estrés y adicción, que interactúan no solo dentro del circuito dopaminérgico y del eje HHA, sino también con los sistemas cannabinoide y opioide (Cristino et al., 2014; Parylak et al., 2012; Sakamoto et al., 2015).

La convergencia de estos tres factores (estrés, consumo de drogas de abuso y hábitos nutricionales) es particularmente crítica durante la adolescencia, un periodo en el cual los cambios estructurales en muchas regiones límbicas y corticales pueden ser alterados por estos factores (Baladi et al., 2012; Daws et al., 2011; Spear, 2000). Durante este periodo, los individuos muestran una sensibilidad reforzada a

la recompensa, lo que los hace más vulnerables a los efectos reforzantes de las drogas (Steinberg, 2010). Sin embargo, la influencia del consumo de comida palatable sobre el aumento de los efectos reforzantes de la cocaína inducidos por el estrés social en animales adolescentes permanece sin explorar.

Considerando las vías neurobiológicas superpuestas estimuladas por la DRG y las drogas de abuso, y su modulación por los sistemas relacionados con el estrés, planteamos la hipótesis de que la ingesta de DRG puede influir en el desarrollo de la PLC inducida por cocaína en ratones adolescentes, particularmente cuando se utilizan dosis subumbral de cocaína. Para poner a prueba esta hipótesis, nuestro estudio se diseñó para explorar dos aproximaciones diferentes. En el primer experimento, modulamos los episodios de DS con la administración de DRG; en el segundo experimento, después de que los animales hubieran sido expuestos al estrés, la adquisición de la PLC de cocaína fue modulada por la administración de DRG. Los receptores mu opioides son modulados por la DRG, contribuyendo a los efectos reforzantes y al valor hedónico de la comida palatable (Mahdavi et al., 2023). Hallazgos previos indican una reducción en la expresión del gen del receptor mu opioide en el NAcc tras una administración tipo atracón de DRG (Blanco-Gandia et al., 2017a; Blanco-Gandia et al., 2017b; Martire et al., 2014; Ong et al., 2013), mientras que la exposición continua parece aumentar su expresión (Blanco-Gandia et al., 2017c; Smith et al., 2002). Por otro lado, los receptores CB1 también están implicados en las propiedades reforzantes de la comida palatable, particularmente la DRG (Friuli et al., 2025). Nuestro grupo de investigación informó de una reducción en la expresión génica de CB1r en el NAcc tras la exposición a DRG (Blanco-Gandia et al., 2017a; Blanco-Gandia et al., 2017c). En conjunto, estos hallazgos sugieren que la ingesta de alimentos puede modular no solo los sistemas dopaminérgicos sino también los no dopaminérgicos, incluidos los sistemas cannabinoide y opioide. Dada la implicación de los sistemas opioide y cannabinoide, así como del eje HHA, en el estrés, la adicción y la recompensa de la comida palatable, también evaluamos la expresión génica del receptor mu opioide (*Oprm*), del receptor cannabinoide 1 (*Cb1r*), y del receptor 1 de la hormona liberadora de corticotropina (*Crhrl*) en el cuerpo estriado al final de los experimentos.

Material y métodos

Sujetos

Un total de 180 ratones machos de la cepa exogámica OF1 en el DPN 42 fueron adquiridos comercialmente de Charles River (Francia). De estos, 30 animales fueron alojados bajo condiciones estándar de aislamiento y se utilizaron como residentes agresivos durante el procedimiento de Derrota Social (DS). Los 150 ratones experimentales restantes

llegaron al laboratorio en el DPN 21 y fueron alojados en condiciones estándar en grupos de cuatro (tamaño de jaula 28 × 28 × 14,5 cm), a una temperatura constante (21 ± 2 °C), con un ciclo de luz invertido (luz blanca encendida 19:30–7:30) y comida y agua disponibles ad libitum (excepto durante las pruebas conductuales). Todos los procedimientos que involucraron a los ratones y su cuidado cumplieron con las leyes y regulaciones nacionales, regionales y locales, las cuales están de acuerdo con la Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo del 22 de septiembre de 2010 sobre la protección de los animales utilizados para fines científicos. El Comité de Uso y Cuidado de Animales de la Universidad de Valencia aprobó el presente estudio (2017/VSC/PEA/00224).

Drogas

Para la PLC, los animales fueron inyectados i.p. con 1 mg/kg de clorhidrato de cocaína (Laboratorios Alcaliber S. A. Madrid, España) diluido en solución salina fisiológica. La dosis de 1 mg/kg de cocaína utilizada para inducir PLC se basó en estudios previos (Maldonado et al., 2006; Vidal-Infer et al., 2012), donde se demostró que es una dosis subumbral que no es efectiva en animales estándar.

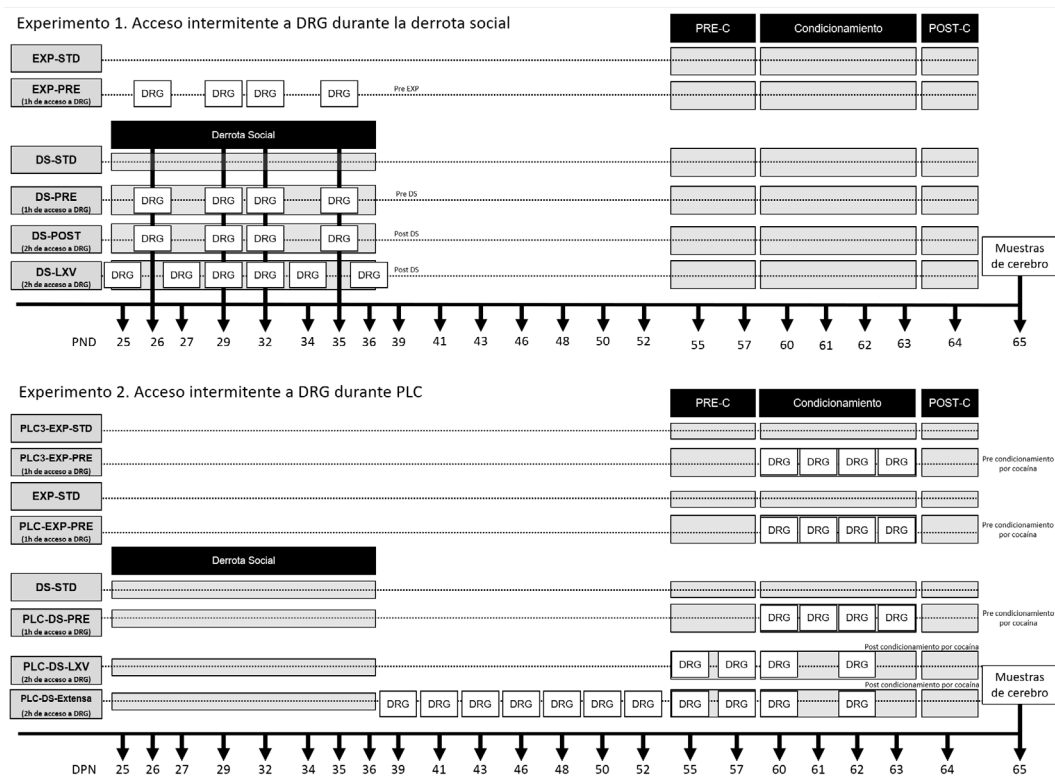
Diseño experimental

Tras 5 días de adaptación en el bioterio, en el DPN 26, los ratones fueron expuestos a DS, excepto los grupos de exploración (EXP). Después de la última sesión de DS/EXP, los animales permanecieron en el bioterio durante tres semanas, alojados en sus respectivas jaulas de origen, y posteriormente realizaron la PLC inducida por 1 mg/kg de cocaína (DPN 55). Tras la finalización de todo el procedimiento experimental, los animales fueron eutanasiados para permitir la obtención de muestras biológicas.

En este estudio se llevaron a cabo dos experimentos diferentes: el Experimento 1 consistió en modular los episodios de DS con distintos patrones de acceso a la DRG y el Experimento 2 evaluó cómo diferentes patrones de acceso a la DRG modulaban los efectos del estrés sobre la adquisición de la PLC. En la Figura 1 se proporciona una descripción general y más detallada de los conjuntos de animales y del procedimiento experimental de cada experimento.

En el Experimento 1, los animales experimentales (n = 76) fueron expuestos a cuatro episodios de EXP/DS con diferentes administraciones de DRG durante las dos semanas de exposición al estrés. Los ratones fueron divididos aleatoriamente en seis grupos con pesos corporales medios similares (25–26 g) y asignados a los siguientes grupos: EXP-STD (ratones no estresados con dieta estándar, n = 12), EXP-PRE (ratones no estresados con 1 h de acceso a DRG antes de cada sesión de exploración, n = 12), DS-STD (ratones derrotados con dieta estándar, n = 15), DS-PRE (ratones derrotados con 1 h de acceso a DRG antes de cada DS, n = 14), DS-LXV (ratones derrotados con 2 h de

Figura 1
Diseño experimental



Nota. En el Experimento 1, los ratones se dividieron en seis grupos: EXP-STD (ratones no estresados con dieta estándar), EXP-PRE (ratones no estresados con 1 h de acceso a DRG antes de cada sesión de exploración), DS-STD (ratones derrotados con dieta estándar), DS-PRE (ratones derrotados con 1 h de acceso a DRG antes de cada DS), DS-LXV (ratones derrotados con 2 h de acceso a DRG los lunes, miércoles y viernes durante las dos semanas de DS, accediendo a la DRG después de las sesiones de DS en los días solapados) y DS-POST (ratones derrotados con 2 h de acceso a la DRG tras 4 h de un episodio de DS). En el Experimento 2, los ratones se dividieron en ocho grupos: EXP-STD (ratones no estresados con dieta estándar), PLC-EXP-PRE (ratones no estresados con 1 h de acceso a la DRG antes de cada sesión de condicionamiento), DS-STD (ratones derrotados con dieta estándar), PLC-DS-PRE (ratones derrotados con 1 h de acceso a la DRG antes de cada sesión de condicionamiento), PLC-DS-LXV (ratones derrotados con 2 h de acceso a la DRG los lunes, miércoles y viernes durante las dos semanas de PLC) y PLC-DS-Extensa (2 h de acceso a la DRG los lunes, miércoles y viernes, desde el último episodio de DS hasta el final de la PLC), PLC3-EXP-STD (ratones no estresados con dieta estándar condicionados con 3 mg/kg de cocaína) y PLC3-EXP-PRE (ratones no estresados con 1 h de acceso a la DRG antes de cada sesión de condicionamiento con 3 mg/kg de cocaína).

acceso a DRG los lunes, miércoles y viernes durante las dos semanas de DS, accediendo a la DRG después de la DS en los días coincidentes, $n = 13$) y DS-POST (ratones derrotados con 2 h de acceso a la DRG tras 4 h de un episodio de DS, $n = 10$). Tres semanas después del último DS, todos los grupos realizaron la PLC inducida por cocaína.

En el Experimento 2 ($n = 80$), los ratones fueron divididos aleatoriamente en seis grupos con pesos corporales medios similares (25–26 g) y asignados a los siguientes grupos: EXP-STD (ratones no estresados con dieta estándar, $n = 12$), PLC-EXP-PRE (ratones no estresados con 1 h de acceso a la DRG antes de cada sesión de condicionamiento, $n = 12$), DS-STD (ratones derrotados con dieta estándar, $n = 15$), PLC-DS-PRE (ratones derrotados con 1 h de acceso a la DRG antes de cada sesión de condicionamiento, $n = 15$), PLC-DS-LXV (ratones derrotados con 2 h de acceso a la DRG los lunes, miércoles y viernes durante las dos semanas de PLC, $n = 15$) y PLC-DS-Extensa (2 h de acceso a la DRG los lunes, miércoles y viernes, desde el último episodio de DS hasta el final de la PLC, $n = 11$). Para minimizar

el uso innecesario de ratones, los grupos designados como EXP-STD y DS-STD en el Experimento 1 consistieron en los mismos ratones utilizados en el Experimento 2.

Se emplearon dos grupos adicionales de ratones ($n = 21$) para evaluar el efecto de la DRG sobre la PLC inducida por 3 mg/kg de cocaína, denominados PLC3-EXP-STD (ratones no estresados con dieta estándar, $n = 11$) y PLC3-EXP-PRE (ratones no estresados con 1 h de acceso a la DRG antes de cada sesión de condicionamiento, $n = 10$).

Condiciones de alimentación

En el estudio se administraron dos tipos diferentes de dieta. A los grupos control se les proporcionó una dieta estándar (Teklad Global Diet 2014, 13 % Kcal grasa, 67 % Kcal carbohidratos y 20 % Kcal proteína; 2,9 kcal/g; sin azúcares añadidos), y a los grupos de dieta rica en grasa se les administró de manera limitada una dieta rica en grasa (TD.06415, 45 % Kcal grasa, 36 % Kcal carbohidratos y 19 % Kcal proteína; 4,6 Kcal/g; el 20 % de los carbohidratos son sacarosa). Ambas dietas fueron suministradas por

Harlan Laboratories Models, S. L. (Barcelona, España) y serán referidas de ahora en adelante como dieta estándar, mientras que el acceso esporádico y limitado a la comida rica en grasa será referido como DRG. La dieta estándar ad libitum y el agua estuvieron siempre disponibles libremente en sus jaulas de origen. Los animales fueron pesados cada semana a lo largo del estudio, y también se midió su ingesta diaria de dieta estándar en su jaula de origen.

Encuentros repetidos de derrota social

Los animales del grupo correspondiente fueron expuestos a cuatro episodios de DS, cada uno con una duración de 25 min. Cada episodio constaba de tres fases, que comenzaban colocando al animal experimental o intruso en la jaula de origen del oponente agresivo o residente durante 10 min. Durante esta fase inicial, el intruso estaba protegido del ataque mediante una pared de malla metálica que permitía la interacción social y la emisión de amenazas típicas de la especie por parte del residente macho agresivo (Covington y Miczek, 2001). En la segunda fase, la malla metálica se retiraba de la jaula y comenzaba un periodo de confrontación de 5 min. En la tercera fase, la malla metálica se volvía a colocar durante 10 min para permitir las amenazas sociales del residente. Los ratones fueron expuestos a DS en los días postnatales (DPNs) 26, 29, 32 y 35. El grupo de exploración (EXP) siguió el mismo protocolo, pero sin la presencia de un ratón residente en la jaula. Tras esta última fase, los animales permanecieron en el bioterio durante tres semanas, alojados en sus respectivos grupos.

Preferencia de Lugar Condicionado

Para el condicionamiento de lugar, utilizamos 16 cajas idénticas de Plexiglas con dos compartimentos de igual tamaño (30,7 cm largo × 31,5 cm ancho × 34,5 cm alto) separados por un área central gris (13,8 cm largo × 31,5 cm ancho × 34,5 cm alto). Los compartimentos tenían paredes de distinto color (negro vs blanco) y diferentes texturas de suelo (rejilla fina en el compartimento negro y rejilla ancha en el blanco). Cuatro haces de luz infrarroja en cada compartimento de la caja y seis en el área central permitían registrar la posición del animal y los cruces entre compartimentos. El equipo se controlaba mediante dos ordenadores IBM PC utilizando el software MONPRE 2Z (CIBERTEC S.A., España).

Adquisición de la PLC

El procedimiento de condicionamiento de lugar, no sesgado en cuanto a la preferencia espontánea inicial, se realizó según lo descrito previamente (Maldonado et al., 2006) y constó de tres fases. En resumen, en la primera fase, conocida como Pre-Condicionamiento (Pre-C), los ratones en el DPN 55 tuvieron acceso a ambos compartimentos del aparato durante 15 min (900 s) al día durante 3 días. En el día 3, se registró el tiempo pasado en cada compartimento durante un periodo de 900 s, y los animales que mostraron

una fuerte aversión no condicionada (menos del 33% del tiempo de sesión) o preferencia (más del 67%) por algún compartimento fueron excluidos del resto del experimento. Dos animales derrotados con dieta estándar cumplieron estos criterios y fueron excluidos de los grupos DS-STD (n = 13) y DS-STD (n = 13) de los Experimentos 1 y 2, respectivamente. La mitad de los animales de cada grupo recibió la droga o el vehículo en un compartimento, y la otra mitad en el otro compartimento. Tras asignar los compartimentos, no se detectaron diferencias significativas en el tiempo pasado en los compartimentos asociados a la droga y al vehículo durante la fase de precondicionamiento. En la segunda fase (condicionamiento), que duró 4 días, los animales recibieron una inyección de solución salina fisiológica inmediatamente antes de ser confinados en el compartimento asociado al vehículo durante 30 min. Después de un intervalo de 4 h, recibieron una inyección de cocaína inmediatamente antes de ser confinados en el compartimento asociado a la droga durante 30 min. En ambos casos, el confinamiento se realizó cerrando la puerta tipo guillotina que separaba los dos compartimentos, haciendo inaccesible el área central. En la tercera fase, conocida como post-condicionamiento (Post-C), se retiró la puerta guillotina que separaba los dos compartimentos (día 8) y se registró el tiempo pasado por los ratones no tratados en cada compartimento durante un periodo de observación de 900 s. La diferencia en segundos entre el tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga durante la prueba Post-C y la fase Pre-C es una medida del grado de condicionamiento inducido por la droga. Si esta diferencia es positiva, entonces la droga ha inducido una preferencia por el compartimento asociado a ella, mientras que lo contrario indica que se ha desarrollado una aversión.

Análisis de expresión génica: aislamiento de ARN y RT-PCR cuantitativa

Al final de los experimentos, los animales fueron eutanasiados por dislocación cervical y los cerebros se extrajeron inmediatamente del cráneo y se colocaron sobre una placa fría. El cuerpo estriado fue disecado y las muestras de tejido cerebral se almacenaron inmediatamente a -80 °C hasta que se realizó el ensayo de rt-PCR (n = 8/condición).

El ARN total del cuerpo estriado se aisló utilizando el método Tri Reagent (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), según lo descrito en el protocolo del fabricante. La retrotranscripción de 1 mg de ARN total se realizó utilizando el kit Transcriptor First Strand cDNA (Thermo Fisher Scientific, Madrid, España). La amplificación de los genes diana y de mantenimiento (β -glucuronidasa) se realizó utilizando el Taqman Gene Expression Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Madrid, España) en un sistema LightCycler 480 (Roche Diagnostics), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los códigos de ensayo de los cebadores utilizados fueron Mm01212171, Mm01188089 y Mm00432670 para

el receptor cannabinoide 1 (*Cb1r*), el receptor opioide μ (*Oprm*) y *Cnr1*, respectivamente. Los datos se analizaron utilizando el software de cuantificación relativa LightCycler 480 y se normalizaron con respecto al producto de amplificación de β -glucuronidasa o *Gusb* (Mm00446953).

Análisis estadísticos

Los datos relacionados con el porcentaje de aumento de peso corporal se analizaron mediante un ANOVA mixto, con una variable intergrupos -Dieta-, con 6 niveles (EXP-STD, EXP-PRE, DS-STD, DS-PRE, DS-LXV, DS-POST) para el Experimento 1 y 6 niveles (PLC-EXP, PLC-EXP-PRE, PLC-DS, PLC-DS-PRE, PLC-DS-LXV, PLC-DS-Extensa) para el Experimento 2, y una variable intragrupos -Semana-, con 5 niveles. Los datos de la media de la ingesta total de Kcal se analizaron mediante un ANOVA unidireccional con la variable intergrupos -Dieta- (EXP-PRE, DS-PRE, DS-LXV, DS-POST para el Experimento 1 y PLC-EXP-PRE, PLC-DS-PRE, PLC-DS-LXV, PLC-DS-Extensa para el Experimento 2).

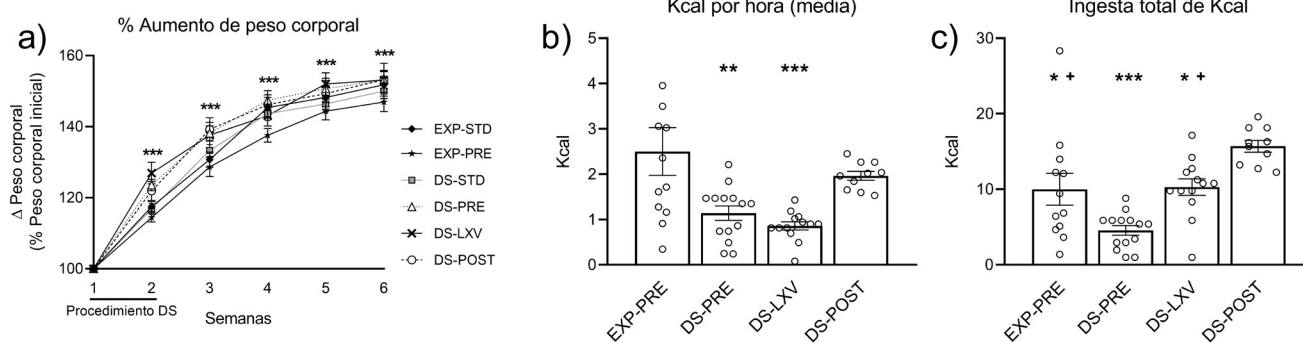
Para el procedimiento de PLC, el tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga se analizó mediante dos ANOVA de medidas repetidas, con una variable intergrupos -Dieta-, con 6 niveles (EXP-STD, EXP-PRE, DS-STD, DS-PRE, DS-LXV, DS-POST para el Experimento 1 y PLC-EXP, PLC-EXP-PRE, PLC-DS, PLC-DS-PRE, PLC-DS-LXV, PLC-DS-Extensa para el Experimento 2), y una variable intragrupos -Días-, con dos niveles (Pre-C y Post-C).

Se realizó un ANOVA unidireccional para evaluar el índice de condicionamiento (definido como el tiempo pasado en el lado asociado a la droga menos el tiempo pasado en el lado asociado al vehículo) y los datos de expresión génica, con una variable intergrupos -Grupo- (EXP-STD, DS-STD, DS-PRE, DS-LXV, DS-POST para el Experimento 1 y PLC-EXP, PLC-DS, PLC-DS-PRE, PLC-DS-LXV, PLC-DS-Extensa para el Experimento 2). Las comparaciones post-hoc se realizaron mediante pruebas de Bonferroni. Todos los datos se presentan como media \pm error estándar de la media (EEM). Se consideró estadísticamente

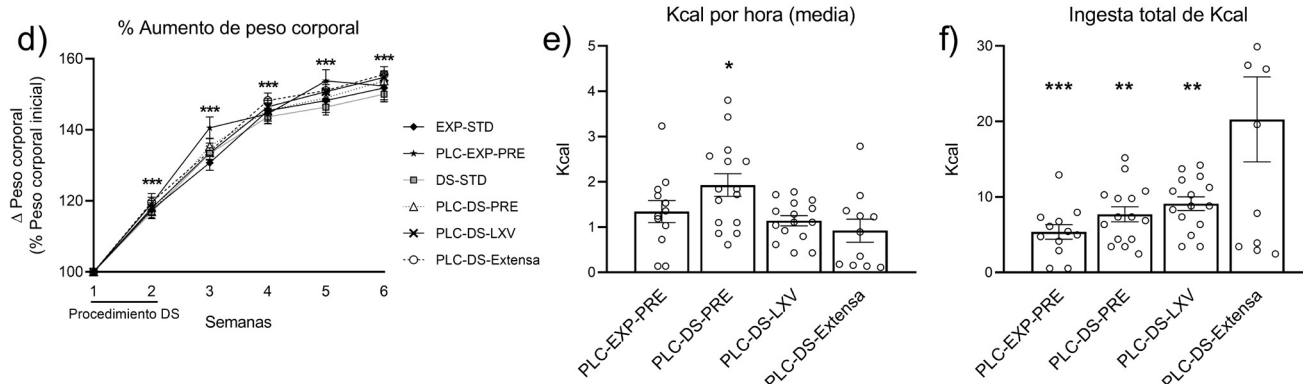
Figura 2

Cambios en el peso corporal y en la ingesta calórica de los ratones durante los Experimentos 1 y 2

Experimento 1



Experimento 2



Nota. (a) % de aumento de peso corporal de los ratones a lo largo de las 6 semanas en el Experimento 1. Los datos se representan como la media (\pm EEM) del % de aumento de peso referido al peso corporal inicial (semana 1). *** $p < ,001$ diferencias significativas dentro de cada grupo entre semanas. (b) Kcal por hora Experimento 1. Los datos se representan como la media de Kcal ingeridas por hora (\pm EEM) durante las sesiones de DRG. *** $p < ,001$; ** $p < ,01$ diferencias significativas con respecto al grupo EXP-PRE. (c) Ingesta total de Kcal Experimento 1. Los datos se representan como la media de Kcal totales (\pm EEM) durante el Experimento 1. * $p < ,05$; ** $p < ,01$; *** $p < ,001$ con respecto al grupo DS-POST; + $p < ,05$ con respecto al grupo DS-PRE. (d) % de aumento de peso corporal de los ratones a lo largo del procedimiento en el Experimento 2. *** $p < ,001$ diferencias significativas dentro de cada grupo entre semanas. (e) Kcal por hora Experimento 2. * $p < ,05$ diferencia significativa con respecto a los grupos PLC-DS-LXV y PLC-DS-Extensa; (f) Ingesta total de Kcal Experimento 2. ** $p < ,01$; *** $p < ,001$ con respecto a PLC-DS-Extensa.

significativo un valor $p < 0.05$. Los análisis se realizaron utilizando SPSS v26.

Resultados

Experimento 1. Modulación de los episodios de DS con comida palatable

1.1. Peso corporal y media de Kcal totales ingeridas en las sesiones de DRG.

El ANOVA para el porcentaje de ganancia de peso (Figura 2a) reveló un efecto de la variable Semana ($F(5, 350) = 847,85, p < ,001$). El peso corporal aumentó desde la primera semana ($p < ,001$ en todos los casos). El ANOVA de la media de Kcal ingeridas por hora (Figura 2b) reveló diferencias significativas en la variable Dieta ($F(3, 45) = 7,50, p < ,001$). Los ratones de los grupos DS-PRE

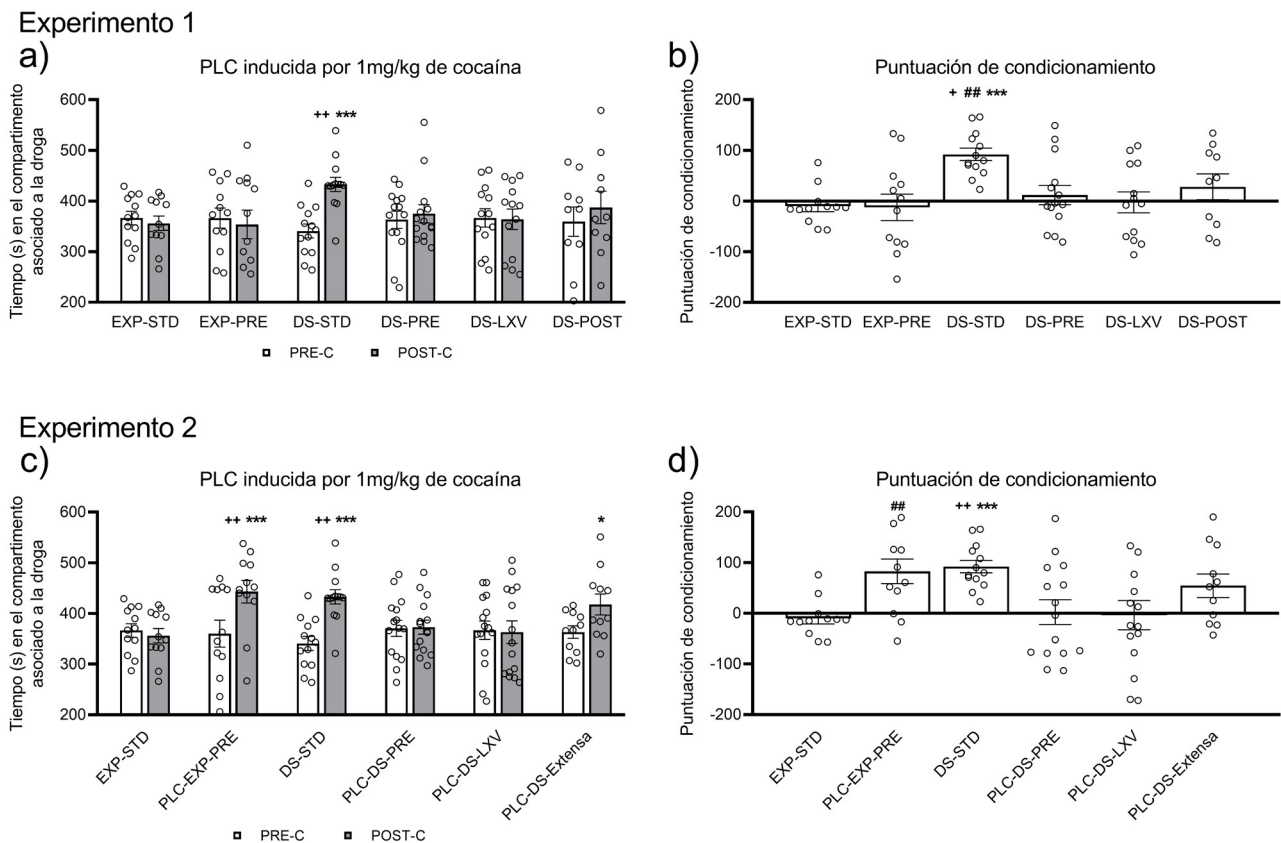
y DS-LXV consumieron menos Kcal por sesión/hora de DRG que el grupo EXP-PRE ($p < ,01$ y $p < ,001$, respectivamente). Con respecto a la ingesta total de kcal (Figura 2c), el ANOVA también reveló un efecto de la variable Dieta ($F(3, 45) = 12,28, p < ,001$). Los ratones del grupo DS-POST consumieron más Kcal que los demás grupos ($p < ,05$ frente a EXP-PRE y DS-LXV y $p < ,001$ frente a DS-PRE). Además, los ratones del grupo DS-PRE ingirieron menos Kcal que los de los grupos EXP-PRE y DS-LXV ($p < ,05$).

1.2. PLC inducida por cocaína

Los resultados de la PLC inducida por 1 mg/kg de cocaína en el Experimento 1 se muestran en la Figura 3. El ANOVA sobre el tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga reveló un efecto en la interacción Días \times Dieta ($F(3, 68) = 3,39, p < ,023$), Días \times Estrés ($F(1, 68) = 10,92, p < ,002$) y Días \times Dieta \times Estrés ($F(1, 68) = 4,14, p < ,002$).

Figura 3

Efectos de la exposición a comida palatable sobre la PLC inducida por cocaína en los Experimentos 1 y 2

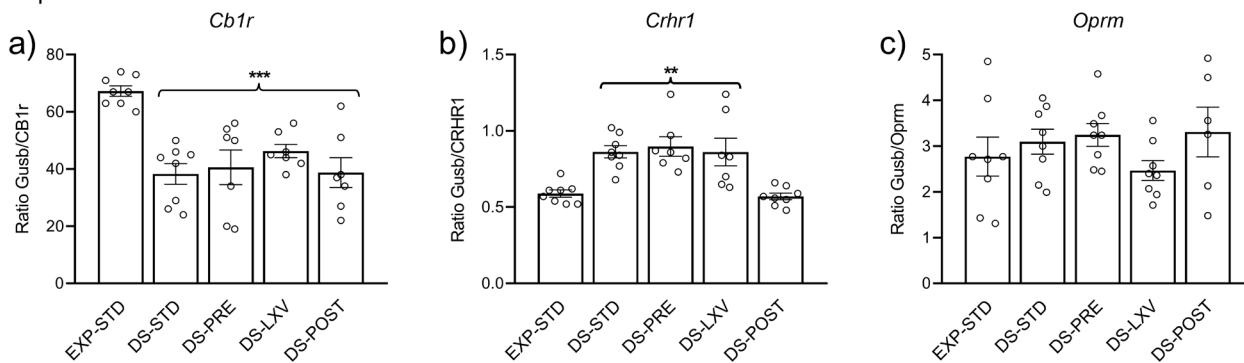


Nota. (a) Efectos de la modulación de los episodios de DS con comida palatable sobre la PLC inducida por cocaína, Experimento 1. Las barras representan la media (\pm EEM) del tiempo en segundos pasado en el compartimento asociado a la droga durante el precondicionamiento (PRE-C, blanco) y el postcondicionamiento (POST-C, gris). $++p < ,01$ diferencia significativa con respecto al POST-C en el resto de los casos; $***p < ,001$ diferencia significativa con respecto al PRE-C en el grupo DS-STD. (b) Índice de condicionamiento, Experimento 1. Diferencias en el tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga frente al compartimento asociado a la solución salina. Las barras representan la media (\pm EEM) del tiempo en segundos. $+p < ,05$ diferencias significativas con respecto a DS-PRE; $##p < ,01$ diferencias significativas con respecto a DS-LXV; y $***p < ,001$ diferencias significativas con respecto a EXP-STD. (c) Efectos de la exposición a una DRG durante la PLC sobre la PLC inducida por cocaína, Experimento 2. Las barras representan la media (\pm EEM) del tiempo en segundos pasado en el compartimento asociado a la droga durante el precondicionamiento (PRE-C, blanco) y el postcondicionamiento (POST-C, gris). $*p < ,05$; $***p < ,001$ diferencia significativa con respecto al PRE-C correspondiente. $++p < ,01$ diferencia significativa con respecto al POST-C de los grupos PLC-EXP-STD y PLC-DS-PRE. (d) Índice de condicionamiento, Experimento 2. Diferencias entre el tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga frente al asociado a la solución salina. Las barras representan la media (\pm EEM) del tiempo en segundos. $##p < ,01$ diferencia significativa con respecto a PLC-EXP-STD y PLC-DS-PRE; $++p < ,01$ diferencia significativa con respecto a PLC-DS-PRE y PLC-DS-MWF; $***p < ,001$ diferencia significativa con respecto a PLC-EXP-STD.

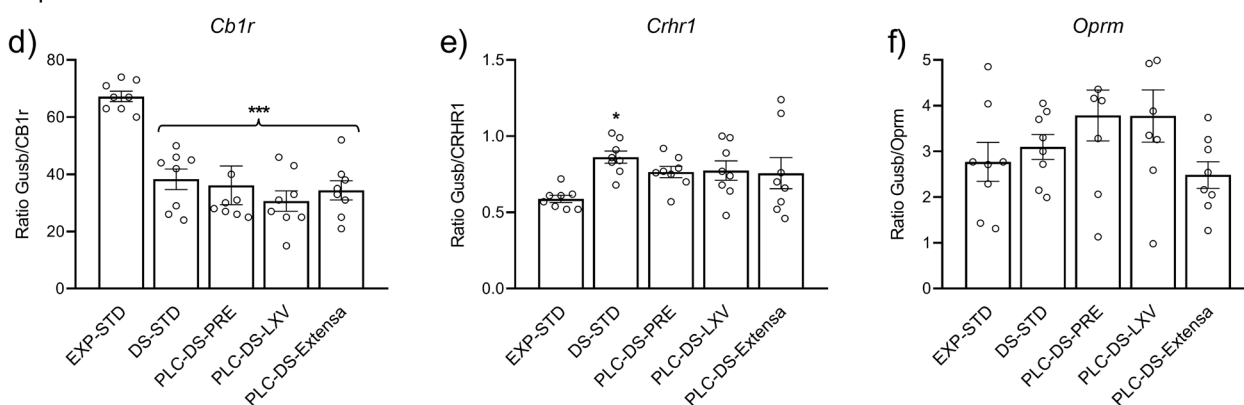
Figura 4

Expresión génica por PCR en tiempo real en el estriado

Experimento 1



Experimento 2



Nota. (n = 8/condición). (a) Receptor cannabinoide 1 - *Cb1r*, Experimento 1: ***p < ,001 diferencias significativas con respecto al grupo EXP-STD. (b) Receptor 1 de la hormona liberadora de corticotropina - *Crhr1*, Experimento 1: **p < ,01 diferencias significativas con respecto a los grupos EXP-STD y DS-POST. (c) Receptor opioide μ - *Oprm*, Experimento 1: Las columnas representan las medias y las líneas verticales \pm EEM de la expresión génica en el estriado de ratones OF1. (d) Receptor cannabinoide 1 - *Cb1r*, Experimento 2: ***p < ,001 diferencias significativas con respecto al grupo PLC-EXP-STD. (e) Receptor 1 de la hormona liberadora de corticotropina - *Crhr1*, Experimento 2: *p < ,05 diferencia significativa con respecto al grupo PLC-EXP-STD. (f) Receptor opioide μ - *Oprm*, Experimento 2: Las columnas representan las medias y las líneas verticales \pm EEM de la expresión génica en el estriado de ratones OF1.

,05). Solo los animales expuestos a DS y alimentados con dieta estándar (DS-STD) pasaron más tiempo en el compartimento asociado a la droga durante POST-C en comparación con PRE-C (p < ,001). El tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga durante POST-C por el grupo DS-STD fue significativamente superior al del resto de los grupos (p < ,01 en todos los casos).

El ANOVA del índice de condicionamiento reveló un efecto de la interacción Dieta \times Estrés (F(1, 68) = 4,14, p < ,05). Entre los ratones DS, aquellos alimentados con dieta estándar (DS-STD) presentaron un índice de condicionamiento significativamente mayor que los derrotados pero expuestos a DRG en LXV (p < ,01) o antes del test PRE-C (p < ,05). El grupo DS-STD también mostró un índice de condicionamiento mayor que el grupo EXP-STD (p < ,001).

1.3. Análisis de expresión génica

Para la expresión génica de *Cb1r* (Figura 4a), el ANOVA reveló un efecto significativo de la variable Grupo (F(4, 32) = 9,74, p < ,001). Todos los ratones expuestos a DS, in-

dependientemente de la dieta, mostraron una disminución significativa en la expresión génica de *Cb1r* en comparación con el grupo EXP-STD (p < ,001). Respecto a la expresión de *Crhr1* (Figura 4b), el ANOVA también reveló un efecto significativo de la variable Grupo (F(4, 33) = 10,08, p < ,001). Los ratones de los grupos DS-STD, DS-PRE y DS-LXV presentaron un aumento significativo de la expresión de *Crhr1* en comparación con los grupos EXP-STD y DS-POST (p < ,01 en ambos casos). No se obtuvieron diferencias significativas en la expresión génica del receptor opioide mu (Figura 4c).

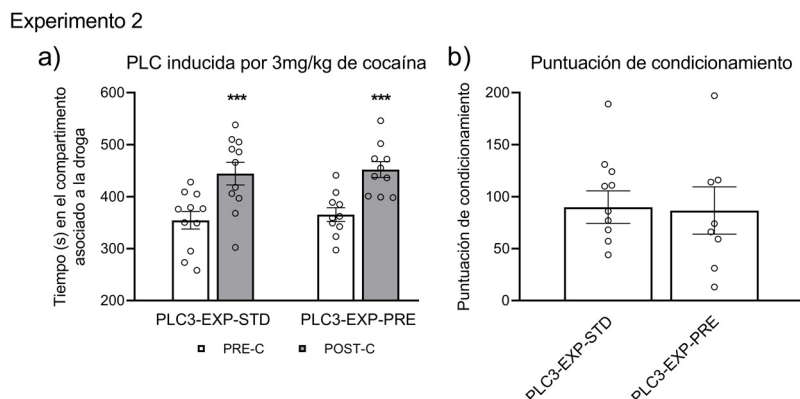
Experimento 2. Modulación del aumento de la PLC inducida por cocaína mediante comida palatable

2.1. Peso corporal y media de Kcal totales ingeridas en las sesiones de DRG.

Como en el primer experimento, el peso corporal aumentó desde el DPN 26 (1ª semana) en adelante (Fi-

Figura 5

Efectos de la exposición a una DRG durante la PLC sobre la PLC inducida por 3 mg/kg de cocaína



Nota. (a) Efectos de la exposición a una DRG durante la PLC sobre la PLC inducida por cocaína. Las barras representan la media (\pm EEM) del tiempo en segundos pasado en el compartimento asociado a la droga durante el precondicionamiento (PRE-C, blanco) y el postcondicionamiento (POST-C, gris). *** $p < ,001$ diferencia significativa con respecto a PRE-C. (b) Índice de condicionamiento. Diferencias entre el tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga frente al asociado a la solución salina. Las barras representan la media (\pm EEM) del tiempo en segundos.

gura 2d). El ANOVA para el porcentaje de aumento de peso reveló un efecto de la variable Semana ($F(5, 370) = 1123,69, p < ,001$). El peso corporal aumentó desde la primera semana ($p < ,001$ en todos los casos). El ANOVA de la media de Kcal ingeridas por hora (Figura 2e) reveló diferencias significativas en la variable Dieta ($F(3, 49) = 4,11, p < ,01$). Los ratones del grupo PLC-DS-PRE consumieron más Kcal por hora de sesión DRG que los grupos PLC-DS-LXV y PLC-DS-Extensa ($p < ,05$). El ANOVA también reveló un efecto de la variable Dieta ($F(3, 49) = 6,18, p < ,001$) respecto a las Kcal totales ingeridas (Figura 2f). Los ratones del grupo PLC-DS-Extensa consumieron más Kcal que los demás grupos ($p < ,001$ frente a PLC-EXP-PRE y $p < ,01$ frente a PLC-DS-PRE y PLC-DS-LXV).

2.2. PLC inducida por cocaína

Los resultados de la PLC inducida por 1 mg/kg de cocaína en el Experimento 2 se presentan en la Figura 3c. El ANOVA del tiempo pasado en el compartimento asociado a la droga reveló un efecto significativo de la variable Días ($F(1, 72) = 11,60, p < ,001$) y de la interacción Días \times Dieta \times Estrés ($F(1, 72) = 16,34, p < ,001$). Se observó preferencia por 1 mg/kg de cocaína en los grupos PLC-DS-STD ($p < ,001$), PLC-DS-Extensa ($p < ,05$), y en ratones no estresados alimentados con DRG antes del condicionamiento (PLC-EXP-PRE) ($p < ,001$). Además, los grupos DS-STD y PLC-EXP-PRE pasaron más tiempo en el compartimento asociado a la droga durante POST-C que los grupos PLC-EXP-STD y PLC-DS-PRE ($p < ,01$ en todos los casos).

El ANOVA para el índice de condicionamiento reveló un efecto de la interacción Dieta \times Estrés ($F(1, 72) = 16,34, p < ,001$) (Figura 3d). Entre los ratones DS, aquellos alimentados con dieta estándar (PLC-DS-STD) presentaron

un índice de condicionamiento significativamente mayor que los ratones no estresados (PLC-EXP-STD) y que los grupos derrotados expuestos a DRG antes del condicionamiento (PLC-DS-PRE) y durante 3 días a la semana (PLC-DS-LXV) ($p < ,001$ para el control y $p < ,01$ para el resto). El grupo no estresado alimentado con DRG antes del condicionamiento (PLC-EXP-PRE) también mostró un índice de condicionamiento mayor que los grupos PLC-EXP-STD y PLC-DS-PRE ($p < ,01$ en ambos casos).

Para evaluar más a fondo el efecto de la exposición a DRG antes de la PLC inducida por cocaína, se evaluó el desarrollo de PLC inducida por una dosis efectiva de cocaína (3 mg/kg) (Figura 5). El ANOVA reveló un efecto de la variable Días ($F(1, 19) = 41,88, p < ,001$). Como era de esperar, 3 mg/kg de cocaína indujo una clara preferencia ($p < ,001$), que no se ve afectada por la administración de DRG. El ANOVA del índice de condicionamiento no reveló diferencias entre los grupos ($F(1, 19) = 0,01, p < ,907$).

2.3. Análisis de expresión génica

Para la expresión génica de *Cb1r* (Figura 4d), el ANOVA reveló un efecto significativo de la variable Grupo ($F(4, 35) = 12,65, p < ,001$). Todos los grupos expuestos a DS, independientemente de la dieta, exhibieron una disminución significativa en la expresión génica de *Cb1r* en comparación con el grupo PLC-EXP-STD ($p < ,001$). El ANOVA para la expresión de *Crrh1* (Figura 4e) también reveló un efecto significativo ($F(4, 35) = 2,77, p < ,05$). Los ratones del grupo DS-STD mostraron un aumento significativo en la expresión de *Crrh1* en comparación con el grupo PLC-EXP-STD ($p < ,05$). No se obtuvieron diferencias significativas en la expresión del receptor opioide mu (Figura 4f).

Discusión

El presente trabajo evalúa los efectos moduladores de la DRG sobre el aumento de los efectos condicionados de recompensa inducidos por la cocaína tras el estrés social en dos momentos críticos: a) durante la exposición al estrés DS y b) a largo plazo tras el DS, durante el procedimiento de PLC inducida por cocaína. El presente estudio demostró por primera vez que la ingesta intermitente de DRG bloqueó el aumento a largo plazo de los efectos condicionados de recompensa de la cocaína. El acceso a la DRG durante los episodios de DS (Experimento 1) contrarrestó eficazmente el desarrollo de PLC con una dosis subumbral de cocaína (1 mg/kg). De manera similar, observamos que el acceso a la DRG antes del condicionamiento (PLC-Pre) o durante tres días a la semana (PLC-LXV) durante la adquisición de la PLC (Experimento 2) bloqueó la mayor sensibilidad a los efectos condicionantes de la cocaína inducidos por DS. Sin embargo, una exposición más prolongada a DRG (PLC-DS-Extensa) no produjo este efecto. A pesar de esta coherencia en los resultados, ninguno de los esquemas de DRG fue capaz de contrarrestar la disminución en la expresión génica de *Cb1r*. Sin embargo, el aumento en la expresión del gen *Cb1r* inducido por DS fue reducido por la administración de DRG durante la PLC o tras cada episodio de DS.

Efectos de la DRG sobre el peso corporal y la ingesta de Kcal.

Una observación clave de esta investigación es que el consumo de DRG no resultó en un aumento del peso corporal. Es bien sabido que la ingesta prolongada de DRG se asocia a obesidad, problemas metabólicos y neuroinflamación (Blanco-Gandía et al., 2017c; Li et al., 2022; Tsai et al., 2022). Estudios preclínicos han observado que el acceso ad libitum a una DRG conduce al síndrome metabólico, aumentando la adiposidad y los niveles de leptina, e interfiriendo con las señales de grelina e insulina (Blanco-Gandía et al., 2017c; Davis et al., 2008; Morales et al., 2012). Sin embargo, los regímenes específicos de DRG utilizados en ambos experimentos no produjeron ninguna alteración significativa en el peso corporal, en consonancia con resultados obtenidos en estudios previos con un patrón similar de administración (Blanco-Gandía et al., 2017b; Hudson et al., 2007; Ródenas-González et al., 2021). Sabemos que tras 40 días de exposición intermitente a DRG en LXV, los niveles de leptina no se vieron afectados, aunque la grelina se redujo significativamente (Blanco-Gandía et al., 2017a,b; Blanco-Gandía et al., 2019). En esta línea, el acceso intermitente a DRG no modificó los niveles plasmáticos de glucosa ni de insulina (Del Olmo et al., 2019). Por lo tanto, nuestros resultados actuales y previos sugieren que la exposición intermitente y limitada a DRG no indujo una afectación profunda del metabolismo general.

Respecto a la ingesta de Kcal procedentes de DRG, es importante señalar que, aunque el acceso fue de 1 h en algunos grupos y de 2 h en otros, la cantidad de Kcal ingeridas se mantuvo similar excepto en el grupo con acceso después de DS. En el Experimento 1, el grupo DS-POST mostró un aumento significativo en la ingesta de Kcal comparado con el resto de grupos de tratamiento con DRG. Este grupo tuvo acceso a DRG después de cada episodio de estrés, sugiriendo que este incremento podría deberse a una respuesta compensatoria al estrés, actuando como comfort food. Varios estudios han reportado este mismo fenómeno, donde ratones expuestos a estrés social aumentan posteriormente su ingesta de DRG (Coccorello et al., 2018; Hassan et al., 2019; Sinha y Jastreboff, 2013). Confirmando este efecto, solo los ratones derrotados del grupo DS-POST mostraron una expresión normalizada del gen *Cb1r*. Por tanto, la capacidad de la DRG para bloquear el aumento de PLC inducida por cocaína no está relacionada con la cantidad ingerida, destacando que incluso una cantidad mínima puede ejercer un efecto potente y duradero.

La comida palatable modula el aumento de la recompensa condicionada por cocaína inducida por estrés social

Como era de esperar y en línea con estudios previos, los ratones derrotados alimentados con dieta estándar exhibieron mayor sensibilidad a una dosis subumbral de cocaína, desarrollando PLC por el compartimento asociado a la droga. Este resultado ha sido descrito en numerosos estudios en los cuales animales expuestos a estrés social muestran mayor vulnerabilidad a los efectos reforzantes de la cocaína evaluados mediante autoadministración intravenosa o PLC inducida por cocaína (Han et al., 2017; Neisewander et al., 2012; Reguilón et al., 2017; Shimamoto, 2018). De forma similar a los resultados presentes, también hemos mostrado anteriormente que ratones derrotados desarrollan PLC utilizando una dosis subumbral de cocaína (Ferrer-Pérez et al., 2019; Giménez-Gómez et al., 2021; Montagud-Romero et al., 2021).

En el Experimento 1, observamos que los grupos derrotados expuestos a los diferentes patrones de administración de DRG durante las dos semanas de encuentros sociales no desarrollaron PLC para la cocaína. Este resultado sugiere que la ingesta de comida palatable puede actuar como un amortiguador de los efectos del estrés (comfort food), como corroboran estudios previos. Por ejemplo, administrar DRG a animales socialmente estresados por aislamiento disminuye los efectos de la cocaína, con una respuesta atenuada de la hiperactividad motora inducida por cocaína (Erhardt et al., 2006), una disminución en la respuesta de corticosterona y un bloqueo en la adquisición de PLC inducida por cocaína (Blanco-Gandía et al., 2018). La DRG podría reducir la actividad del eje HHA (Auvinen et al., 2012; Pecoraro et al., 2004), lo que podría conducir a una

reducción a largo plazo de los efectos reforzantes de la cocaína causados por el estrés, especialmente en la adolescencia, cuando la sensibilidad a la recompensa está aumentada (Blanco-Gandía et al., 2018; Steinberg, 2010).

Los resultados obtenidos en el Experimento 2, donde los animales fueron expuestos a diferentes patrones de administración de DRG durante el procedimiento de PLC, mostraron que todos los grupos DS expuestos a DRG durante la adquisición de PLC no desarrollaron preferencia por la cocaína, excepto el grupo PLC-DS-Extensa. Este grupo inició la exposición a DRG justo después del último episodio de DS y la mantuvo hasta el final de la PLC. A pesar de esta larga exposición, este grupo mostró una sensibilidad aumentada a los efectos reforzantes de la dosis subumbral de cocaína, similar a los animales DS alimentados con dieta estándar. Esto sugiere que cuando la exposición a DRG es prolongada y no contingente con la exposición al estrés o con la adquisición de la PLC, el efecto protector de la comida palatable desaparece. Probablemente, la exposición prolongada a DRG intermitente puede incluso sensibilizar el sistema de recompensa, como sugieren estudios previos (Blanco-Gandía et al., 2017a, 2017b; Puhl et al., 2011). En apoyo de esta hipótesis, sabemos que seis semanas de administración intermitente de DRG aumentan la sensibilidad de ratones adolescentes a una dosis subumbral de cocaína, requiriendo además más tiempo para extinguir la preferencia (Blanco-Gandía et al., 2017b). Sin embargo, también hemos mostrado previamente que la exposición limitada e intermitente a DRG después de adquirir la preferencia por la cocaína bloquea la reinstauración y acelera la extinción en ratones no estresados (Ródenas-González et al., 2021), indicando que el momento de la exposición a DRG es crítico en la modulación del sistema de recompensa. En línea con ello, los resultados presentes indican que cuando la administración intermitente de DRG es contingente y limitada a los días de sesión de PLC, los efectos reforzantes de la cocaína aumentados por estrés social son bloqueados, posiblemente debido a una competencia por la recompensa. Estos hallazgos concuerdan con nuestro reciente informe que sugiere que el efecto protector de la exposición intermitente a DRG puede extenderse a diversas drogas de abuso, como etanol, previniendo potencialmente la susceptibilidad inducida por estrés a diferentes sustancias adictivas (Arenas et al., 2025).

Un efecto interesante observado en este experimento fue que los ratones no estresados expuestos a DRG antes de la adquisición de PLC desarrollaron preferencia por la cocaína. La capacidad de la DRG para inducir preferencia condicionada ha sido descrita previamente (Jarosz et al., 2007; Mizoguchi et al., 2021). A diferencia de estos estudios, nuestro procedimiento de condicionamiento solo requirió cuatro sesiones y la ingesta calórica no estuvo restringida. De hecho, nuestros resultados no demostraron que la DRG por sí sola indujera preferencia condicionada, sino que en

combinación con una dosis no efectiva de cocaína fue capaz de desarrollar preferencia. Este efecto aditivo también fue descrito por Iqbal et al. (2023), quienes observaron que el opiáceo oxicodona solo desarrollaba preferencia en el compartimento asociado a la DRG.

Cambios en la expresión génica estriatal tras la administración de DRG en ratones socialmente derrotados

Considerando la relevancia de los sistemas cannabinoide y opioide en la adicción y los efectos de la DRG (Barson et al., 2012; Kawahara et al., 2013), así como la importancia crítica del factor liberador de corticotropina en el estrés (Puhl et al., 2011), también exploramos cambios en la expresión génica de *Cb1r*, *Cnr1* y *Oprm* en el estriado al final del procedimiento experimental. Bajo dieta estándar, DS induce una reducción en *Cb1r* y un aumento en la expresión de *Cnr1*, sin cambios en la expresión de *Oprm*. El objetivo de este estudio fue evaluar los cambios en la expresión génica en ratones estresados expuestos a DRG intermitente. Los efectos de la administración de DRG en ratones no estresados han sido estudiados previamente (Blanco-Gandía et al., 2017a,b).

El aumento en la expresión de *Cnr1* confirma lo reportado por otros estudios, según los cuales la expresión de *Cnr1* suele aumentar como respuesta al estrés (Logrip et al., 2012). Un aumento en la expresión de *Cnr1* puede incrementar la vulnerabilidad a los efectos de recompensa de la cocaína, dado que se ha demostrado que los antagonistas CRHR1 bloquean este efecto tanto en PLC como en SA (Boyson et al., 2014; Ferrer-Pérez et al., 2018).

Solo cuando se administró después de un episodio de DS (DS-Post), la DRG redujo eficientemente la expresión de *Cnr1* a niveles similares a los del grupo EXP. DS-Post fue el grupo con la mayor ingesta de Kcal por sesión, sugiriendo que el incremento en la ingesta de grasa podría jugar un papel en este efecto. Como se mencionó previamente, existe una tendencia a aumentar la ingesta de comida palatable en roedores expuestos a estrés (Coccorello et al., 2018; Pecoraro et al., 2004; Zellner et al., 2006). Podemos sugerir que la DRG produjo un efecto similar a los antagonistas CRHR1, reduciendo la expresión de *Cnr1* y, consecuentemente, la actividad del eje HHA (Foster et al., 2009; la Fleur et al., 2005; Pecoraro et al., 2004; Ulrich-Lai et al., 2011). Además, otros estudios han demostrado que la DRG puede reducir los niveles de corticosterona en ratones aislados (Blanco-Gandía et al., 2018) o expuestos a estrés por inmovilización (Zeeni et al., 2013). La DRG también reduce otras consecuencias del estrés social, como la evitación social, la ansiedad y la conducta depresiva (MacKay et al., 2017; Maniam y Morris, 2010; Otsuka et al., 2019).

Por otro lado, las intervenciones con DRG durante la adquisición de PLC en el Experimento 2 solo redujeron levemente la expresión de *Cnr1*. Por tanto, aunque se ob-

servó una disminución en los efectos reforzantes condicionados de la cocaína tras todas las administraciones de DRG durante DS, la expresión de *Cnr1* solo fue bloqueada cuando el acceso se proporcionó después de cada episodio de estrés. En el Experimento 2, cuando la DRG se administró a largo plazo tras la exposición al estrés, aunque no se observó un aumento significativo en la expresión de *Cnr1* tras ninguna de las administraciones de DRG, el nivel de expresión de este gen se mantuvo elevado en todos los grupos derrotados, indicando la ausencia de un efecto valioso de la DRG fuera del periodo de estrés.

La señalización opioide está estrechamente asociada con las propiedades reforzantes de la comida y juega un papel clave en la regulación de la palatabilidad (Esch y Stefano, 2024), mientras que el sistema endocannabinoide participa en el control homeostático de la ingesta y proporciona retroalimentación positiva específicamente para la ingesta de alimentos grasos (Koch, 2001). De acuerdo con los datos disponibles, la ingesta intermitente de grasa podría alterar las vías de recompensa a través de la interacción de los sistemas opioide y cannabinoide.

Independientemente de la dieta, todos los grupos expuestos a DS presentaron una disminución en la expresión del gen *Cb1r*, confirmando que DS puede tener efectos a largo plazo sobre el sistema cannabinoide. Estudios previos han demostrado que la señalización CB1 modula la respuesta al estrés (Valverde y Torrens, 2012). Por ejemplo, el estrés crónico se asocia a una reducción en la expresión de *Cb1r* en el hipocampo (Hill et al., 2005; Hu et al., 2011; Reich et al., 2009) y en el estriado (Rossi et al., 2008; Wang et al., 2010). Además, la estimulación de los receptores CB1 reduce efectos inducidos por estrés como la anhedonia (Rademacher y Hillard, 2007), conductas depresivas (Gobbi et al., 2005) y conductas pasivas de afrontamiento del estrés (Steiner et al., 2008).

Nuestros resultados mostraron que la marcada reducción en la expresión de *Cb1r* observada en animales derrotados no se revirtió mediante ninguno de los patrones de administración de DRG en ninguno de los experimentos. En consonancia con esto, estudios previos también han sugerido que la DRG disminuye la expresión de *Cb1r* en el NAcc de roedores adultos (Bello et al., 2012; Martire et al., 2014) y adolescentes (Blanco-Gandía et al., 2017b). El efecto similar del estrés y de la DRG en la expresión de *Cb1r* podría explicar la ausencia de una reversión observable en nuestro estudio.

Finalmente, los resultados de ambos experimentos sugieren que ni el estrés social ni la administración intermitente de DRG causan alteraciones en la expresión del gen *Oprm*. Aunque la implicación del sistema opioide endógeno en las respuestas al estrés (Komatsu et al., 2011) y la ingesta de grasa ha sido documentada (Sakamoto et al., 2015), la literatura existente muestra resultados contradictorios respecto a la expresión de *Oprm*, sugiriendo una regulación

compleja del sistema opioide endógeno. Incrementos en la expresión de *Oprm* se han asociado con ingesta continua de alimentos palatables y de algunas bebidas azucaradas o edulcoradas (Blanco-Gandía et al., 2017a,b; Soto et al., 2015), pero también se ha informado una disminución tras ingesta crónica de DRG en modelos de ratones obesos (Vucetic et al., 2011). Además, una ingesta prolongada pero limitada e intermitente de comida rica en grasa parece reducir la expresión de *Oprm* en el NAcc (Blanco-Gandía et al., 2017a,b). En consecuencia, nuestros resultados podrían deberse a la exposición limitada a DRG en comparación con otros estudios, indicando que las Kcal ingeridas por los ratones en nuestro estudio no fueron suficientes para inducir algún cambio. Estos hallazgos se ven reforzados por investigaciones previas en ratones no estresados expuestos a DRG limitada e intermitente tras adquirir preferencia por cocaína, en los cuales no se observaron cambios en la expresión de *Oprm* en el estriado (Ródenas-González et al., 2021).

Conclusión

Los resultados de este estudio confirmaron que la comida palatable podría ser un buen reforzador alternativo capaz de reducir la adquisición de la preferencia condicionada por cocaína en animales estresados. El periodo específico de administración de DRG parece ser un factor importante a considerar, mientras que la duración de la exposición no fue crítica. De hecho, nuestros resultados sugieren que una exposición prolongada a DRG puede no ser efectiva. La administración breve de una dieta grasa después de DS o durante la adquisición de la preferencia por cocaína puede reducir sus efectos condicionados de refuerzo. Este efecto podría estar mediado por una reducción en el aumento de la expresión génica de *Cnr1*. Estudios futuros deberían abordar otros sistemas relacionados con el estrés y la recompensa para proporcionar una explicación más amplia del efecto positivo de la DRG sobre las consecuencias del estrés social.

Basándonos en nuestros resultados previos y actuales, planteamos la hipótesis de que la administración controlada de DRG podría ser una estrategia útil para mitigar los efectos del estrés social sobre los efectos reforzantes de la cocaína, especialmente cuando esta administración ocurre durante la exposición al estrés o a la cocaína. Considerando la influencia de esta dieta en los circuitos de recompensa y sus efectos cuando se administra durante periodos prolongados, los presentes resultados destacan el potente efecto de una exposición mínima a grasas. La ausencia de un modelo adecuado y validado para estudiar la derrota social en ratonas hasta años recientes ha retrasado la implementación de este estudio en hembras. Además, el estudio de otras estructuras cerebrales como el hipotálamo podría aportar más información sobre los mecanismos implicados.

Desde una perspectiva traslacional, nuestros resultados no deben interpretarse como una recomendación de consumo prolongado de DRG. El valor de nuestros hallazgos reside en la posible utilidad de consumir pequeñas cantidades de alimentos altos en grasa durante experiencias de estrés o exposición a cocaína. Es esencial enfatizar que la ingesta de grasa debe proceder predominantemente de fuentes ricas en ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados. Está bien establecido que el consumo de alimentos ricos en grasa, como productos muy procesados y altamente palatables, estimula el sistema de recompensa y aumenta el riesgo de desarrollar adicción a la comida (Ulug et al., 2025). Por tanto, se debe tener una especial precaución al recomendar este tipo de ingesta en pacientes que ya presentan un trastorno por consumo de cocaína. El consumo de dichas dietas debe ser cuidadosamente controlado y debe garantizarse el acceso a una DRG saludable.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por las siguientes subvenciones: PID-2020-112672RB-I00 por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y ERDF A way of making Europe; Instituto de Salud Carlos III, Atención primaria, cronicidad y promoción de la salud, RED DE INVESTIGACIÓN EN ATENCIÓN PRIMARIA DE ADICCIONES (RIAPAd) RD21/0009/0003 y RD23/0003/0004. Generalitat Valenciana, Conselleria de Educació, Direcció General de Universitats, Grups de Investigació de Excel·lència PROMETEO (CIPROM/2021/080).

Conflicto de intereses

Los autores de este artículo declaran no presentar conflictos de interés.

Referencias

- Arenas, M. C., Pérez-Esteban, I., Cañeque-Rufó, H., Gramage, E., Herradón, G. y Rodríguez-Arias, M. (2025). Intermittent and limited exposure to a high-fat diet prevents social defeat-induced increase in ethanol intake and neuroinflammation. *Food & Function*, 16(12), 5133–5150. <https://doi.org/10.1039/D5FO00584A>
- Auvinen, H. E., Romijn, J. A., Biermasz, N. R., Pijl, H., Havekes, L. M., Smit, J. W. A., Rensen, P. C. N. y Pereira, A. M. (2012). The effects of high fat diet on the basal activity of the hypothalamus–pituitary–adrenal axis in mice. *Journal of Endocrinology*, 214(2), 191–197. <https://doi.org/10.1530/JOE-12-0056>
- Avena, N. M., Rada, P. y Hoebel, B. G. (2008). Evidence for sugar addiction: Behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32(1), 20–39. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.04.019>
- Baladi, M. G., Daws, L. C. y France, C. P. (2012). You are what you eat: Influence of type and amount of food consumed on central dopamine systems and the behavioral effects of direct- and indirect-acting dopamine receptor agonists. *Neuropharmacology*, 63(1), 76–86. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.02.005>
- Ballestín, R., Alegre-Zurano, L., Ferrer-Pérez, C., Cantacorps, L., Miñarro, J., Valverde, O. y Rodríguez-Arias, M. (2021). Neuroinflammatory and behavioral susceptibility profile of mice exposed to social stress towards cocaine effects. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 105, 110123. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110123>
- Barson, J. R., Morganstern, I. y Leibowitz, S. F. (2012). Neurobiology of Consummatory Behavior: Mechanisms Underlying Overeating and Drug Use. *ILAR Journal*, 53(1), 35–58. <https://doi.org/10.1093/ilar.53.1.35>
- Bello, N. T., Coughlin, J. W., Redgrave, G. W., Ladenheim, E. E., Moran, T. H. y Guarda, A. S. (2012). Dietary conditions and highly palatable food access alter rat cannabinoid receptor expression and binding density. *Physiology & Behavior*, 105(3), 720–726. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.09.021>
- Blanco-Gandía, M. C., Aracil-Fernández, A., Montagud-Romero, S., Aguilar, M. A., Manzanares, J., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2017c). Changes in gene expression and sensitivity of cocaine reward produced by a continuous fat diet. *Psychopharmacology*, 234(15), 2337–2352. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4630-9>
- Blanco-Gandía, M. C., Cantacorps, L., Aracil-Fernández, A., Montagud-Romero, S., Aguilar, M. A., Manzanares, J., Valverde, O., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2017a). Effects of bingeing on fat during adolescence on the reinforcing effects of cocaine in adult male mice. *Neuropharmacology*, 113, 31–44. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.09.020>
- Blanco-Gandía, M. C., Ledesma, J. C., Aracil-Fernández, A., Navarrete, F., Montagud-Romero, S., Aguilar, M. A., Manzanares, J., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2017b). The rewarding effects of ethanol are modulated by binge eating of a high-fat diet during adolescence. *Neuropharmacology*, 121, 219–230. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.04.040>
- Blanco-Gandía, M. C., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2019). Behavioral profile of intermittent vs continuous access to a high fat diet during adolescence. *Behavioural Brain Research*, 368, 111891. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.04.005>
- Blanco-Gandía, M. C., Montagud-Romero, S., Aguilar, M. A., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2018). Housing conditions modulate the reinforcing properties of cocaine in adolescent mice that binge on fat. *Physiology*

- & Behavior*, 183, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.phys-beh.2017.10.014>
- Boyson, C. O., Holly, E. N., Shimamoto, A., Albrechet-Souza, L., Weiner, L. A., DeBold, J. F. y Miczek, K. A. (2014). Social Stress and CRF–Dopamine Interactions in the VTA: Role in Long-Term Escalation of Cocaine Self-Administration. *The Journal of Neuroscience*, 34(19), 6659–6667. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3942-13.2014>
- Buchanan, T. W. y Lovallo, W. R. (2019). The role of genetics in stress effects on health and addiction. *Current Opinion in Psychology*, 27, 72–76. <https://doi.org/10.1016/j.copsyc.2018.09.005>
- Burke, A. R., DeBold, J. F. y Miczek, K. A. (2016). CRF type 1 receptor antagonism in ventral tegmental area of adolescent rats during social defeat: Prevention of escalated cocaine self-administration in adulthood and behavioral adaptations during adolescence. *Psychopharmacology*, 233(14), 2727–2736. <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4336-4>
- Burke, A. R. y Miczek, K. A. (2015). Escalation of cocaine self-administration in adulthood after social defeat of adolescent rats: Role of social experience and adaptive coping behavior. *Psychopharmacology*, 232(16), 3067–3079. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-3947-5>
- Burke, A. R., Watt, M. J. y Forster, G. L. (2011). Adolescent social defeat increases adult amphetamine conditioned place preference and alters D2 dopamine receptor expression. *Neuroscience*, 197, 269–279. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.09.008>
- Carnevali, L., Montano, N., Tobaldini, E., Thayer, J. F. y Sgoifo, A. (2020). The contagion of social defeat stress: Insights from rodent studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 111, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.01.011>
- Coccorello, R., Romano, A., Giacobuzzo, G., Tempesta, B., Fiore, M., Giudetti, A. M., Marrocco, I., Altieri, F., Moles, A. y Gaetani, S. (2018). Increased intake of energy-dense diet and negative energy balance in a mouse model of chronic psychosocial defeat. *European Journal of Nutrition*, 57(4), 1485–1498. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1434-y>
- Covington, H. y Miczek, K. (2001). Repeated social-defeat stress, cocaine or morphine. *Psychopharmacology*, 158(4), 388–398. <https://doi.org/10.1007/s002130100858>
- Cristino, L., Becker, T. y Di Marzo, V. (2014). Endocannabinoids and energy homeostasis: An update. *BioFactors*, 40(4), 389–397. <https://doi.org/10.1002/biof.1168>
- Dallman, M. F., Pecoraro, N., Akana, S. F., la Fleur, S. E., Gomez, F., Houshyar, H., Bell, M. E., Bhatnagar, S., Laugero, K. D. y Manalo, S. (2003). Chronic stress and obesity: A new view of “comfort food.” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(20), 11696–11701. <https://doi.org/10.1073/pnas.1934666100>
- Davis, J. F., Tracy, A. L., Schurdak, J. D., Tschöp, M. H., Lipton, J. W., Clegg, D. J. y Benoit, S. C. (2008). Exposure to elevated levels of dietary fat attenuates psychostimulant reward and mesolimbic dopamine turnover in the rat. *Behavioral Neuroscience*, 122(6), 1257–1263. <https://doi.org/10.1037/a0013111>
- Daws, L. C., Avison, M. J., Robertson, S. D., Niswender, K. D., Galli, A. y Saunders, C. (2011). Insulin signaling and addiction. *Neuropharmacology*, 61(7), 1123–1128. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.02.028>
- Del Olmo, N., Blanco-Gandía, M. C., Mateos-García, A., Del Rio, D., Miñarro, J., Ruiz-Gayo, M. y Rodríguez-Arias, M. (2019). Differential Impact of Ad Libitum or Intermittent High-Fat Diets on Bingeing Ethanol-Mediated Behaviors. *Nutrients*, 11(9), 2253. <https://doi.org/10.3390/nu11092253>
- de Macedo, I. C., de Freitas, J. S. y da Silva Torres, I. L. (2016). The Influence of Palatable Diets in Reward System Activation: A Mini Review. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2016, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2016/7238679>
- Dickerson, S. S. y Kemeny, M. E. (2004). Acute Stressors and Cortisol Responses: A Theoretical Integration and Synthesis of Laboratory Research. *Psychological Bulletin*, 130(3), 355–391. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.130.3.355>
- DiLeone, R. J., Taylor, J. R. y Picciotto, M. R. (2012). The drive to eat: Comparisons and distinctions between mechanisms of food reward and drug addiction. *Nature Neuroscience*, 15(10), 1330–1335. <https://doi.org/10.1038/nn.3202>
- Erhardt, E., Zibetti, L. C. E., Godinho, J. M., Bacchieri, B. y Barros, H. M. T. (2006). Behavioral changes induced by cocaine in mice are modified by a hyperlipidic diet or recombinant leptin. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39(12), 1625–1635. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006001200014>
- Esch, T., Stefano, G. B. y Michaelsen, M. M. (2024). The foundations of mind-body medicine: Love, good relationships, and happiness modulate stress and promote health. *Stress and Health*, 40(4). <https://doi.org/10.1002/smi.3387>
- Ferrer-Pérez, C., Reguilón, M. D., Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2018). Antagonism of corticotropin-releasing factor CRF 1 receptors blocks the enhanced response to cocaine after social stress. *European Journal of Pharmacology*, 823, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.01.052>
- Ferrer-Pérez, C., Reguilón, M. D., Manzanedo, C., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2019). Social Housing Conditions Modulate the Long-Lasting Increase in Cocaine Reward Induced by Intermittent Social Defeat. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00148>

- Foster, M. T., Warne, J. P., Ginsberg, A. B., Horneman, H. F., Pecoraro, N. C., Akana, S. F. y Dallman, M. F. (2009). Palatable Foods, Stress, and Energy Stores Sculpt Corticotropin-Releasing Factor, Adrenocorticotropin, and Corticosterone Concentrations after Restraint. *Endocrinology*, 150(5), 2325–2333. <https://doi.org/10.1210/en.2008-1426>
- Friuli, M., Eramo, B., Sepe, C., Kiani, M., Casolini, P. y Zuena, A. R. (2025). The endocannabinoid and paracannabinoid systems in natural reward processes: Possible pharmacological targets? *Physiology and Behavior*, 296. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2025.114929>
- Gemesi, K., Holzmann, S. L., Kaiser, B., Wintergerst, M., Lurz, M., Groh, G., Böhm, M., Krcmar, H., Gedrich, K., Hauner, H. y Holzapfel, C. (2022). Stress eating: An online survey of eating behaviours, comfort foods, and healthy food substitutes in German adults. *BMC Public Health*, 22(1), 391. <https://doi.org/10.1186/s12889-022-12787-9>
- Giménez-Gómez, P., Ballestín, R., Gil de Biedma-Elduayen, L., Vidal, R., Ferrer-Pérez, C., Reguilón, M. D., O'Shea, E., Miñarro, J., Colado, M. I. y Rodríguez-Arias, M. (2021). Decreased kynurenine pathway potentiate resilience to social defeat effect on cocaine reward. *Neuropharmacology*, 197, 108753. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108753>
- Gobbi, G., Bambico, F. R., Mangieri, R., Bortolato, M., Campolongo, P., Solinas, M., Cassano, T., Morgese, M. G., Debonnel, G., Duranti, A., Tontini, A., Tarzia, G., Mor, M., Trezza, V., Goldberg, S. R., Cuomo, V. y Piomelli, D. (2005). Antidepressant-like activity and modulation of brain monoaminergic transmission by blockade of anandamide hydrolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(51), 18620–18625. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509591102>
- Han, X., DeBold, J. F. y Miczek, K. A. (2017). Prevention and reversal of social stress-escalated cocaine self-administration in mice by intra-VTA CRFR1 antagonism. *Psychopharmacology*, 234(18), 2813–2821. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4676-8>
- Hassan, A. M., Mancano, G., Kashofer, K., Fröhlich, E. E., Matak, A., Mayerhofer, R., Reichmann, F., Olivares, M., Neyrinck, A. M., Delzenne, N. M., Claus, S. P. y Holzer, P. (2019). High-fat diet induces depression-like behaviour in mice associated with changes in microbiome, neuropeptide Y, and brain metabolome. *Nutritional Neuroscience*, 22(12), 877–893. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2018.1465713>
- Herhaus, B., Ullmann, E., Chrousos, G. y Petrowski, K. (2020). High/low cortisol reactivity and food intake in people with obesity and healthy weight. *Translational Psychiatry*, 10(1), 40. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0729-6>
- Hill, M. N., Patel, S., Carrier, E. J., Rademacher, D. J., Ormerod, B. K., Hillard, C. J. y Gorzalka, B. B. (2005). Downregulation of Endocannabinoid Signaling in the Hippocampus Following Chronic Unpredictable Stress. *Neuropsychopharmacology*, 30(3), 508–515. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300601>
- Hudson, J. I., Hiripi, E., Pope, H. G. y Kessler, R. C. (2007). The Prevalence and Correlates of Eating Disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Biological Psychiatry*, 61(3), 348–358. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.03.040>
- Hu, W., Zhang, M., Czéh, B., Zhang, W. y Flügge, G. (2011). Chronic restraint stress impairs endocannabinoid mediated suppression of GABAergic signaling in the hippocampus of adult male rats. *Brain Research Bulletin*, 85(6), 374–379. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.04.005>
- Iqbal, A., Hamid, A., Ahmad, S. M. y Lutfy, K. (2023). The Role of Mu Opioid Receptors in High Fat Diet-Induced Reward and Potentiation of the Rewarding Effect of Oxycodone. *Life*, 13(3), 619. <https://doi.org/10.3390/life13030619>
- Jarosz, P. A., Kessler, J. T., Sekhon, P. y Coscina, D. V. (2007). Conditioned place preferences (CPPs) to high-caloric “snack foods” in rat strains genetically prone vs. resistant to diet-induced obesity: Resistance to naltrexone blockade. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 86(4), 699–704. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.02.017>
- Kalyani, M., Hasselfeld, K., Janik, J. M., Callahan, P. y Shi, H. (2016). Effects of High-Fat Diet on Stress Response in Male and Female Wildtype and Prolactin Knockout Mice. *PLOS ONE*, 11(11), e0166416. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166416>
- Kawahara, Y., Kaneko, F., Yamada, M., Kishikawa, Y., Kawahara, H. y Nishi, A. (2013). Food reward-sensitive interaction of ghrelin and opioid receptor pathways in mesolimbic dopamine system. *Neuropharmacology*, 67, 395–402. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.11.022>
- Kim, Y., Yang, H. Y., Kim, A.-J. y Lim, Y. (2013). Academic stress levels were positively associated with sweet food consumption among Korean high-school students. *Nutrition*, 29(1), 213–218. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2012.08.005>
- Koch, J. E. (2001). Δ^9 -THC stimulates food intake in Lewis rats: effects on chow, high-fat and sweet high-fat diets. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 68(3), 539–543. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(01\)00467-1](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(01)00467-1)
- Komatsu, H., Ohara, A., Sasaki, K., Abe, H., Hattori, H., Hall, F. S., Uhl, G. R. y Sora, I. (2011). Decreased response to social defeat stress in μ -opioid-receptor knockout mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 99(4), 676–682. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2011.06.008>
- Kontinen, H. (2020). Emotional eating and obesity in adults: The role of depression, sleep and genes. *Proceedings of the*

- Nutrition Society*, 79(3), 283–289. <https://doi.org/10.1017/S0029665120000166>
- Koob, G. F. (2009). Brain stress systems in the amygdala and addiction. *Brain Research*, 1293, 61–75. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.03.038>
- Koob, G. F. (2010). The role of CRF and CRF-related peptides in the dark side of addiction. *Brain Research*, 1314, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.11.008>
- Koob, G. F. y Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of Addiction. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 217–238. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.110>
- la Fleur, S. E., Houshyar, H., Roy, M. y Dallman, M. F. (2005). Choice of Lard, But Not Total Lard Calories, Damps Adrenocorticotropin Responses to Restraint. *Endocrinology*, 146(5), 2193–2199. <https://doi.org/10.1210/en.2004-1603>
- Leigh Gibson, E. (2006). Emotional influences on food choice: Sensory, physiological and psychological pathways. *Physiology & Behavior*, 89(1), 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.01.024>
- Linders, L. E., Patrikiou, L., Soiza-Reilly, M., Schut, E. H. S., van Schaffelaar, B. F., Böger, L., Wolterink-Donselaar, I. G., Luijendijk, M. C. M., Adan, R. A. H. y Meys, F. J. (2022). Stress-driven potentiation of lateral hypothalamic synapses onto ventral tegmental area dopamine neurons causes increased consumption of palatable food. *Nature Communications*, 13(1), 6898. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34625-7>
- Li, Y., Chen, H., Wang, J., Wang, J., Niu, X., Wang, C., Qin, D., Li, F., Wang, Y., Xiong, J., Liu, S., Huang, L., Zhang, X., Gao, F., Gao, D., Fan, M., Xiao, X. y Wang, Z.-H. (2022). Inflammation-activated C/EBP β mediates high-fat diet-induced depression-like behaviors in mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 15. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.1068164>
- Loebens, M. y Barros, H. M. T. (2003). Diet influences cocaine withdrawal behaviors in the forced swimming test. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 74(2), 259–267. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(02\)00924-3](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(02)00924-3)
- Logrip, M. L., Zorrilla, E. P. y Koob, G. F. (2012). Stress modulation of drug self-administration: Implications for addiction comorbidity with post-traumatic stress disorder. *Neuropharmacology*, 62(2), 552–564. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.07.007>
- MacKay, J. C., Kent, P., James, J. S., Cayer, C. y Merali, Z. (2017). Ability of palatable food consumption to buffer against the short- and long-term behavioral consequences of social defeat exposure during juvenility in rats. *Physiology & Behavior*, 177, 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.04.002>
- Mahdavi, K., Zendejdel, M. y Baghbanzadeh, A. (2023). Central effects of opioidergic system on food intake in birds and mammals: A review. *Veterinary Research Commun-*
- nications*, 47(3), 1103–1114. <https://doi.org/10.1007/S11259-023-10142-W>
- 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(2), 119–131. <https://doi.org/10.1097/01.fbp.0000190685.84984.ec>
- Maniam, J. y Morris, M. J. (2010). Voluntary exercise and palatable high-fat diet both improve behavioural profile and stress responses in male rats exposed to early life stress: Role of hippocampus. *Psychoneuroendocrinology*, 35(10), 1553–1564. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.05.012>
- Martire, S. I., Maniam, J., South, T., Holmes, N., Westbrook, R. F. y Morris, M. J. (2014). Extended exposure to a palatable cafeteria diet alters gene expression in brain regions implicated in reward, and withdrawal from this diet alters gene expression in brain regions associated with stress. *Behavioural Brain Research*, 265, 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.02.027>
- Miczek, K., Yap, J. y Covingtoniii, H. (2008). Social stress, therapeutics and drug abuse: Preclinical models of escalated and depressed intake. *Pharmacology & Therapeutics*, 120(2), 102–128. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2008.07.006>
- Mizoguchi, A., Banno, R., Sun, R., Yaginuma, H., Taki, K., Kobayashi, T., Sugiyama, M., Tsunekawa, T., Onoue, T., Takagi, H., Hagiwara, D., Ito, Y., Iwama, S., Suga, H., Nagai, T., Yamada, K. y Arima, H. (2021). Glucocorticoid receptor signaling in ventral tegmental area neurons increases the rewarding value of a high-fat diet in mice. *Scientific Reports*, 11(1), 12873. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92386-7>
- Montagud-Romero, S., Aguilar, M. A., Maldonado, C., Manzanedo, C., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2015). Acute social defeat stress increases the conditioned rewarding effects of cocaine in adult but not in adolescent mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 135, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.05.008>
- Montagud-Romero, S., Reguilón, M. D., Pascual, M., Blanco-Gandía, M. C., Guerri, C., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2021). Critical role of TLR4 in uncovering the increased rewarding effects of cocaine and ethanol induced by social defeat in male mice. *Neuropharmacology*, 182, 108368. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108368>
- Montagud-Romero, S., Reguilón, M. D., Roger-Sanchez, C., Pascual, M., Aguilar, M. A., Guerri, C., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2016). Role of dopamine neurotransmission in the long-term effects of repeated social defeat on the conditioned rewarding effects of cocaine. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 71, 144–154. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2016.07.008>

- Morales, L., Del Olmo, N., Valladolid-Acebes, I., Fole, A., Cano, V., Merino, B., Stucchi, P., Ruggieri, D., López, L., Alguacil, L. F. y Ruiz-Gayo, M. (2012). Shift of Circadian Feeding Pattern by High-Fat Diets Is Coincident with Reward Deficits in Obese Mice. *PLOS ONE*, 7(5), e36139. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036139>
- Neisewander, J. L., Peartree, N. A. y Pentkowski, N. S. (2012). Emotional valence and context of social influences on drug abuse-related behavior in animal models of social stress and prosocial interaction. *Psychopharmacology*, 224(1), 33–56. <https://doi.org/10.1007/s00213-012-2853-3>
- Ong, Z. Y., Wanasuria, A. F., Lin, M. Z. P., Hiscock, J. y Muhlhausler, B. S. (2013). Chronic intake of a cafeteria diet and subsequent abstinence. Sex-specific effects on gene expression in the mesolimbic reward system. *Appetite*, 65, 189–199. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2013.01.014>
- Otsuka, A., Shiuchi, T., Chikahisa, S., Shimizu, N. y Séi, H. (2019). Sufficient intake of high-fat food attenuates stress-induced social avoidance behavior. *Life Sciences*, 219, 219–230. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.01.012>
- Packard, A. E. B., Ghosal, S., Herman, J. P., Woods, S. C. y Ulrich-Lai, Y. M. (2014). Chronic variable stress improves glucose tolerance in rats with sucrose-induced prediabetes. *Psychoneuroendocrinology*, 47, 178–188. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.05.016>
- Parylak, S. L., Cottone, P., Sabino, V., Rice, K. C. y Zorrilla, E. P. (2012). Effects of CB1 and CRF1 receptor antagonists on binge-like eating in rats with limited access to a sweet fat diet: Lack of withdrawal-like responses. *Physiology & Behavior*, 107(2), 231–242. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.06.017>
- Pecoraro, N., Reyes, F., Gomez, F., Bhargava, A. y Dallman, M. F. (2004). Chronic Stress Promotes Palatable Feeding, which Reduces Signs of Stress: Feedforward and Feedback Effects of Chronic Stress. *Endocrinology*, 145(8), 3754–3762. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0305>
- Peleg-Raibstein, D., Sarker, G., Litwan, K., Krämer, S. D., Ametamey, S. M., Schibli, R. y Wolfrum, C. (2016). Enhanced sensitivity to drugs of abuse and palatable foods following maternal overnutrition. *Translational Psychiatry*, 6(10), e911–e911. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.176>
- Pitman, K. A. y Borgland, S. L. (2015). Changes in mu-opioid receptor expression and function in the mesolimbic system after long-term access to a palatable diet. *Pharmacology & Therapeutics*, 154, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.07.005>
- Puhl, M. D., Cason, A. M., Wojnicki, F. H. E., Corwin, R. L. y Grigson, P. S. (2011). A history of bingeing on fat enhances cocaine seeking and taking. *Behavioral Neuroscience*, 125(6), 930–942. <https://doi.org/10.1037/a0025759>
- Rademacher, D. J. y Hillard, C. J. (2007). Interactions between endocannabinoids and stress-induced decreased sensitivity to natural reward. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 31(3), 633–641. <https://doi.org/10.1016/j.pnpb.2006.12.013>
- Reguilón, M. D., Ferrer-Pérez, C., Ballestín, R., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2020). Voluntary wheel running protects against the increase in ethanol consumption induced by social stress in mice. *Drug and Alcohol Dependence*, 212, 108004. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2020.108004>
- Reguilón, M. D., Ferrer-Pérez, C., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2021). Oxytocin reverses ethanol consumption and neuroinflammation induced by social defeat in male mice. *Hormones and Behavior*, 127, 104875. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2020.104875>
- Reguilón, M. D., Montagud-Romero, S., Ferrer-Pérez, C., Roger-Sánchez, C., Aguilar, M. A., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2017). Dopamine D2 receptors mediate the increase in reinstatement of the conditioned rewarding effects of cocaine induced by acute social defeat. *European Journal of Pharmacology*, 799, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.01.039>
- Reich, C. G., Taylor, M. E. y McCarthy, M. M. (2009). Differential effects of chronic unpredictable stress on hippocampal CB1 receptors in male and female rats. *Behavioural Brain Research*, 203(2), 264–269. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.05.013>
- Ródenas-González, F., Blanco-Gandía, M. del C., Pascual, M., Molari, I., Guerri, C., López, J. M. y Rodríguez-Arias, M. (2021). A limited and intermittent access to a high-fat diet modulates the effects of cocaine-induced reinstatement in the conditioned place preference in male and female mice. *Psychopharmacology*, 238(8), 2091–2103. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05834-7>
- Rodríguez-Arias, M., Montagud-Romero, S., Guardia Carrión, A. M., Ferrer-Pérez, C., Pérez-Villalba, A., Marco, E., López Gallardo, M., Viveros, M.-P. y Miñarro, J. (2018). Social stress during adolescence activates long-term microglia inflammation insult in reward processing nuclei. *PLOS ONE*, 13(10), e0206421. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206421>
- Rodríguez-Arias, M., Montagud-Romero, S., Rubio-Araiz, A., Aguilar, M. A., Martín-García, E., Cabrera, R., Maldonado, R., Porcu, F., Colado, M. I. y Miñarro, J. (2017). Effects of repeated social defeat on adolescent mice on cocaine-induced CPP and self-administration in adulthood: Integrity of the blood–brain barrier. *Addiction Biology*, 22(1), 129–141. <https://doi.org/10.1111/adb.12301>
- Rossi, S., De Chiara, V., Musella, A., Kusayanagi, H., Mataluni, G., Bernardi, G., Usiello, A. y Centonze, D. (2008). Chronic Psychoemotional Stress Impairs Cannabinoid-Receptor-Mediated Control of GABA Transmission in the Striatum. *The Journal of Neuroscience*, 28(29), 7284–7292. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5346-07.2008>

- Sakamoto, K., Matsumura, S., Okafuji, Y., Eguchi, A., Yoneda, T., Mizushige, T., Tsuzuki, S., Inoue, K. y Fushiki, T. (2015). The opioid system contributes to the acquisition of reinforcement for dietary fat but is not required for its maintenance. *Physiology & Behavior*, 138, 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.11.001>
- Shimamoto, A. (2018). Social Defeat Stress, Sex, and Addiction-Like Behaviors. In *International Review of Neurobiology* (Vol. 140, pp. 271–313). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2018.07.009>
- Shimizu, T., Ishida, A., Hagiwara, M., Ueda, Y., Hattori, A., Tajiri, N. y Hida, H. (2020). Social Defeat Stress in Adolescent Mice Induces Depressive-like Behaviors with Reduced Oligodendrogenesis. *Neuroscience*, 443, 218–232. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.07.002>
- Sinha, R. y Jastreboff, A. M. (2013). Stress as a Common Risk Factor for Obesity and Addiction. *Biological Psychiatry*, 73(9), 827–835. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.01.032>
- Smith, S. L., Harrold, J. A. y Williams, G. (2002). Diet-induced obesity increases μ opioid receptor binding in specific regions of the rat brain. *Brain Research*, 953(1–2), 215–222. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)03291-2](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)03291-2)
- Soto, M., Chaumontet, C., Even, P. C., Nadkarni, N., Piedcoq, J., Darcel, N., Tomé, D. y Fromentin, G. (2015). Intermittent access to liquid sucrose differentially modulates energy intake and related central pathways in control or high-fat fed mice. *Physiology & Behavior*, 140, 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.12.008>
- Spear, L. P. (2000). Neurobehavioral Changes in Adolescence. *Current Directions in Psychological Science*, 9(4), 111–114. <https://doi.org/10.1111/1467-8721.00072>
- Steinberg, L. (2010). A dual systems model of adolescent risk-taking. *Developmental Psychobiology*, 52(3), 216–224. <https://doi.org/10.1002/dev.20445>
- Steiner, M. A., Wanisch, K., Monory, K., Marsicano, G., Borroni, E., Bächli, H., Holsboer, F., Lutz, B. y Wotjak, C. T. (2008). Impaired cannabinoid receptor type 1 signaling interferes with stress-coping behavior in mice. *The Pharmacogenomics Journal*, 8(3), 196–208. <https://doi.org/10.1038/sj.tpj.6500466>
- Tsai, S.-F., Hsu, P.-L., Chen, Y.-W., Hossain, M. S., Chen, P.-C., Tzeng, S.-F., Chen, P.-S. y Kuo, Y.-M. (2022). High-fat diet induces depression-like phenotype via astrocyte-mediated hyperactivation of ventral hippocampal glutamatergic afferents to the nucleus accumbens. *Molecular Psychiatry*, 27(11), 4372–4384. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01787-1>
- Ulrich-Lai, Y. M., Ostrander, M. M. y Herman, J. P. (2011). HPA axis dampening by limited sucrose intake: Reward frequency vs. caloric consumption. *Physiology & Behavior*, 103(1), 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.12.011>
- Ulug, E., Acikgoz Pinar, A. y Yildiz, B. O. (2025). Impact of ultra-processed foods on hedonic and homeostatic appetite regulation: A systematic review. *Appetite*, 213. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2025.108139>
- Valverde, O. y Torrens, M. (2012). CB1 receptor-deficient mice as a model for depression. *Neuroscience*, 204, 193–206. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.09.031>
- Vidal-Infer, A., Arenas, M. C., Daza-Losada, M., Aguilar, M. A., Miñarro, J. y Rodríguez-Arias, M. (2012). High novelty-seeking predicts greater sensitivity to the conditioned rewarding effects of cocaine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 102(1), 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.03.031>
- Volkow, N. D. y Blanco, C. (2023). Substance use disorders: A comprehensive update of classification, epidemiology, neurobiology, clinical aspects, treatment and prevention. *World Psychiatry*, 22(2), 203–229. <https://doi.org/10.1002/wps.21073>
- Volkow, N. D., Wang, G. -J., Tomasi, D. y Baler, R. D. (2013). Obesity and addiction: Neurobiological overlaps. *Obesity Reviews*, 14(1), 2–18. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2012.01031.x>
- Vucetic, Z., Kimmel, J. y Reyes, T. M. (2011). Chronic High-Fat Diet Drives Postnatal Epigenetic Regulation of μ -Opioid Receptor in the Brain. *Neuropsychopharmacology*, 36(6), 1199–1206. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.4>
- Wang, W., Liu, W., Duan, D., Bai, H., Wang, Z. y Xing, Y. (2021). Chronic social defeat stress mouse model: Current view on its behavioral deficits and modifications. *Behavioral Neuroscience*, 135(3), 326–335. <https://doi.org/10.1037/bne0000418>
- Wang, W., Sun, D., Pan, B., Roberts, C. J., Sun, X., Hillard, C. J. y Liu, Q. (2010). Deficiency in Endocannabinoid Signaling in the Nucleus Accumbens Induced by Chronic Unpredictable Stress. *Neuropsychopharmacology*, 35(11), 2249–2261. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.99>
- Weathington, J. M. y Cooke, B. M. (2012). Corticotropin-Releasing Factor Receptor Binding in the Amygdala Changes Across Puberty in a Sex-Specific Manner. *Endocrinology*, 153(12), 5701–5705. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1815>
- Zeeni, N., Daher, C., Fromentin, G., Tome, D., Darcel, N. y Chaumontet, C. (2013). A cafeteria diet modifies the response to chronic variable stress in rats. *Stress*, 16(2), 211–219. <https://doi.org/10.3109/10253890.2012.708952>
- Zellner, D. A., Loaiza, S., Gonzalez, Z., Pita, J., Morales, J., Pecora, D. y Wolf, A. (2006). Food selection changes under stress. *Physiology & Behavior*, 87(4), 789–793. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.01.014>