



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**EL ANTAGONISTA GABA_B 2-HIDROXISACLOFEN REVIERTE
EL EFECTO DEL BACLOFEN EN LA SEÑAL DISCRIMINATIVA
DE LA ANFETAMINA CON EL CONDICIONAMIENTO AVERSIVO
A LOS SABORES**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADO EN PSICOLOGÍA**

**PRESENTA:
JUAN CARLOS JIMÉNEZ MEJÍA**



**COMISIÓN DICTAMINADORA:
DR. FLORENCIO MIRANDA HERRERA
MTRA. AIDA IVONNE BARRIENTOS NORIEGA
MTRA. ROSA ISELA RUÍZ GARCÍA**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS, por dejarme vivir esta experiencia y poner en mi camino a personas tan importantes para mi desarrollo y aprendizaje personal; por haber elegido para mi la familia Jiménez Mejía, pues cada integrante a jugado un papel significativo en mi existir y han fungido como pilares en algún momento..

Gracias a cada una de las personas involucradas en este episodio de mi vida, a mis amigos que quiero y respeto tanto, por los instantes que conformaron estos años de trabajo; a mis compañeros por ser cómplices; a mis profesores y maestros, por su tesón al enseñarme, por lo que aprendí y por lo que no; a mi súper equipo de Neurofarmacología Conductual en especial al Dr. Florencio Miranda por brindarme un espacio en su proyecto; a Aida Ivonne, Rosa Isela, Diana Isela y a Rogelio por aceptar ser parte de la comisión ~~inquisidora~~ dictaminadora. Gracias Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM , por lo que me diste, porque tus paredes susurraban el conocimiento latente, por ser testigo mudo de la evolución que allí viví.

A mis abuelitos que son como mis segundos Padres, Mamámary y Papágüero por compartir el día con día, por permitirme conocer su historia y dejarme ser parte de ella, por dejarme conocer su benevolencia y lo maravilloso que son. Los amo y estaré infinitamente agradecido con ustedes.

Para finalizar con broche de oro, agradezco a las tres mujeres que han fungido como mi fuente de inspiración y que son mi porqué en la vida:

- Ma', gracias por apoyarme infinitamente, por creer en mi, por todos tus esfuerzos, por educarme, por cada una de las lecciones de vida, por mostrarme que el mundo es mucho más pequeño que el amor que me tienes, por todo lo que me has dado. Gracias por haber aceptado ser mi Madre. Te amo.
- A mi hermana de toda la vida, a mi Teacher, a Edith. Gracias por estar a mi lado apoyándome en cada una de mis decisiones, por ser mi confidente fiel y por compartir conmigo un sinfín de historias. Te llevo en mi corazón.
- A Ivonne por todo el amor que me da, por enseñarme esas cosas tan pequeñas que me permiten ser una gran persona, por tener un abrazo y un beso para mi. Sabes que te quiero mucho y que siempre estaré presente.

A todos... Gracias!!!!

Me gustaría creer que la muerte es la transformación a la eternidad,
pues Padre, te recuerdo siempre.

INDICE

	Pág.
RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
CAPITULO I	
ADICCIÓN A LAS DROGAS	6
1.1 ADICCIÓN A LOS PSICOESTIMULANTES	7
1.1.1 LAS DROGAS COMO REFORZADORES	7
1.2. SISTEMA DE RECOMPENSA DEL CEREBRO	9
1.3 MECANISMO NEUROBIOLÓGICO DE LA ADICCIÓN A LOS PSICOESTIMULANTES	10
CAPITULO II	
SISTEMAS DE NEUROTRANSMISIÓN MEDIADORES	12
2.1 INFLUENCIA DE LA SEROTONINA SOBRE EL SISTEMA DE LA DOPAMINA	12
2.2 INFLUENCIA DEL GLUTAMATO SOBRE EL SISTEMA DE LA DOPAMINA	13
2.3 INFLUENCIA DEL ÁCIDO GAMMA AMINO BUTÍRICO SOBRE EL SISTEMA DE LA DOPAMINA	15
CAPITULO III	
MÉTODOS CONDUCTUALES PARA EL ESTUDIO DE LAS ADICCIONES	16
3.1 DISCRIMINACIÓN DE DROGAS	16
3.2 CONDICIONAMIENTO AVERSIVO A LAS SABORES	19
3.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
3.4 OBJETIVO GENERAL	22

CAPITULO IV

MÉTODO	23
4.1 SUJETOS	23
4.2 APARATOS Y ESCENARIO EXPERIMENTAL	23
4.2 DROGAS	23
4.4 PROCEDIMIENTO	24
4.5 DISEÑO DE EXPERIMENTAL	26
4.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	26

CAPITULO V

RESULTADOS	27
5.1 ADQUISICIÓN DE DISCRIMINACIÓN ANF-SALINA	27
5.2 PRUEBAS DE GENERALIZACIÓN CON ANFETAMINA	29
5.3 PRUEBAS DE GENERALIZACIÓN CON COMPUESTOS GABA _B	29
5.4 PRUEBAS DE GENERALIZACIÓN CON BACLOFEN + ANF Y 2-HIDROXISACLOFEN + BACLOFEN + ANF	31
5.5 CONSUMO TOTAL DE LÍQUIDOS DURANTE LAS PRUEBAS DE GENERALIZACIÓN	31
DISCUSIÓN	33
REFERENCIAS	37

RESUMEN

El presente estudio fue diseñado para evaluar si la administración de Baclofen altera las propiedades discriminativas de la anfetamina (ANF) con la finalidad de averiguar si la neurotransmisión GABAérgica modula una de las conductas relacionadas con la adicción a los psicoestimulantes, empleando un procedimiento de discriminación de drogas con el condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) como base para su adquisición. Adicionalmente, se evaluó la administración de 2-hidroxisaclofen, antagonista selectivo GABA_B, para determinar si los efectos del Baclofen sobre las propiedades discriminativas de la ANF son mediados específicamente por los receptores GABA_B. Se utilizaron 10 ratas machos de la cepa Wistar que fueron entrenadas con el procedimiento del CAS para la adquisición de la discriminación y posteriormente se realizaron pruebas de sustitución, con diferentes dosis de ANF, diferentes dosis de Baclofen y diferentes dosis de 2-hidroxisaclofen; En las pruebas de combinación, se administraron diversas dosis de Baclofen más una dosis fija de ANF y diversas dosis de 2-hidroxisaclofen más una dosis fija de Baclofen y una dosis fija de ANF. En los resultados se encontró que el Baclofen y el 2-Hidroxisaclofen no substituyen a la señal discriminativa de la ANF. Sin embargo, el Baclofen disminuye la señal discriminativa de la ANF de forma dependiente de la dosis, mientras que el 2-hidroxisaclofen previene este efecto. Esto indica que la activación de los receptores GABA_B con el agonista Baclofen disminuye los efectos conductuales de los psicoestimulantes, y que tanto el Baclofen como el 2-hidroxisaclofen actúan en el sitio de los receptores GABA_B.

Palabras clave: Anfetamina, receptores GABA_B, 2-hidroxisaclofen, Baclofen y Condicionamiento Aversivo a los Sabores.

INTRODUCCIÓN

En nuestro país, como en el resto del mundo, la adicción a las drogas se considera un problema de salud pública, ya que se ha agudizado en los últimos años y muestra una tendencia que permite predecir su incremento y amerita atención prioritaria por lo que es importante explorar los mecanismos de acción de las drogas de abuso, las cuales pertenecen a diferentes clases, y aunque tienen diferentes blancos moleculares en diversos sitios neuroanatómicos, tienen en común aumentar la neurotransmisión de la dopamina (DA) en el núcleo accumbens (NAcc) (Koob y Le Moal, 1997). En el caso particular de los psicoestimulantes, como la cocaína y la anfetamina (ANF), hay evidencia de que su mecanismo neurobiológico implica un aumento en la neurotransmisión de DA en el circuito mesolímbico que surge del área tegmental ventral (ATV) y proyecta al NAcc (Koe, 1976); la cocaína inhibe el transportador de la recaptura de la DA mientras que la ANF facilita la liberación de DA en las terminales presinápticas al invertir la función de los transportadores de las vesículas y de las membranas plasmáticas de las neuronas DAérgicas (Rothman y Baumann, 2003). De esta forma, el efecto funcional de ambas drogas es prolongar la estimulación de los receptores DAérgicos en el NAcc (Groves y Rebec 1976; Koe, 1976).

Recientemente, se ha sugerido que no sólo la DA, sino también el sistema de neurotransmisión del ácido gamma aminobutírico (GABA) juega un papel modulador en los efectos neuroquímicos y conductuales de los psicoestimulantes (Bowery et al., 2002; Brebner et al., 2002; Cousins et al., 2002). Por ejemplo, se ha reportado que el agonista GABA_B Baclofen reduce las propiedades reforzantes de la cocaína (Roberts y Andrews, 1997), la nicotina (Fattore et al., 2002), reduce los puntos de ruptura generados con programas de razón progresiva reforzados con cocaína (ver revisión de Roberts y Brebner, 2000) y disminuye las autoadministraciones de ANF (Brebner et al., 2005). Estos resultados y los de otros estudios, indican un papel potencialmente importante para los receptores

GABA_B en los efectos conductuales relacionados con el abuso de los psicoestimulantes.

Una forma de estudiar la relación que hay entre el GABA, particularmente el que implica la estimulación de los receptores GABA_B con la liberación de neurotransmisores DAérgicos, es utilizar un modelo conductual de la discriminación de drogas. La mayoría de las drogas que producen adicción, tienen la capacidad de producir poderosos estímulos internos que son considerados como un factor importante en la adicción. Los procedimientos de discriminación de drogas se utilizan tanto con animales como con humanos para estudiar estos estímulos internos que difieren de una droga a otra y son mediados por sistemas de neurotransmisión diferentes (Glennon et al., 1991). Nosotros hemos reportado que la administración de ANF produce una señal discriminativa que es modulada por compuestos DAérgicos (Miranda y Velázquez-Martínez, 1997), 5-HTérgicos (Miranda et al., 2005) y Gluérgicos (Miranda et al., 2006), por lo que el procedimiento de discriminación de drogas podría ser de utilidad para estudiar el mecanismo neurobiológico de la adicción a los psicoestimulantes.

CAPITULO I

ADICCIÓN A LAS DROGAS

La adicción a las drogas es un problema de salud pública, crónico y recurrente que amerita atención prioritaria. En el proceso de adicción, las conductas de consumo y búsqueda compulsiva de las drogas persisten a pesar de sus consecuencias negativas.

Las sustancias adictivas producen estados placenteros como la euforia o el alivio del estrés. Sin embargo, la adicción a las drogas es un fenómeno complejo con consecuencias y causas psicológicas y sociales importantes, pero que en el fondo implica un proceso neurobiológico: las exposiciones repetidas a un agente biológico o sintético (la droga) sobre un sustrato biológico (el cerebro) en el curso del tiempo. De esta forma, las exposiciones repetidas a las drogas adictivas producen adaptaciones en neuronas individuales que alteran el funcionamiento de los circuitos neuronales en que operan estas neuronas. Estos cambios adaptativos en el sistema nervioso central conducen eventualmente a conductas complejas como la dependencia física, la tolerancia, la sensibilización, el deseo por la droga y la recaída, que caracterizan un estado de adicción (Koob y Le Moal, 1997; Wise, 1996).

La adicción, o farmacodependencia de acuerdo con la APA, se define como un desorden recurrente y crónico caracterizado por tres elementos:

- Conductas compulsivas en la búsqueda y consumo de drogas.
- Pérdida del control en el consumo de drogas.
- Emergencia de un estado emocional negativo cuando no se tiene acceso a la droga como ansiedad, irritabilidad, malestar físico, etc.

La Oficina contra la Droga y el Delito de la ONU (Office on Drugs and Crime, 2007), señala que cada año un importante porcentaje de la población mundial

(aproximadamente el 5%) consume drogas ilícitas, de los cuales el 0.6% son psicoestimulantes tipo ANF (ETA) y 0.3% Cocaína. Sin embargo, de los 25 millones de personas que, según se estima, son toxicómanos agudos, sólo una de cada cinco recibe tratamiento. En México, de acuerdo a la Encuesta Nacional de las Adicciones (ENA, 2002), el 5.03% de la población urbana y rural, entre los 12 y 65 años de edad, ha consumido una droga ilegal alguna vez en la vida. Esto equivale aproximadamente a 3.5 millones de personas. El uso de drogas es considerado mayor en hombres (8.59%) que en las mujeres (2.11%), e incluso más alto en varones entre los 18 y 34 años de edad (11.52%). En el país, las sustancias más consumidas son: marihuana (3.48%), cocaína (1.23%), inhalantes y los estimulantes de tipo anfetamínico (0.45%).

1.1 ADICCIÓN A LOS PSICOESTIMULANTES

El uso repetido de los psicoestimulantes resulta inevitablemente en adicción. La adicción a los psicoestimulantes se caracteriza por cambios a largo plazo en el comportamiento, tal como el establecimiento del deseo por la droga y el desarrollo progresivo de la paranoia (Kalivas, 2000). La cocaína y la ANF comparten dos propiedades con otras drogas adictivas: son reforzantes cuando se administran en forma aguda y producen uso compulsivo si se administran crónicamente con dosis y frecuencia adecuadas (Hyman, 1996). Un objetivo primario para el tratamiento de la adicción a los psicoestimulantes es la comprensión de los sustratos neuronales que median las alteraciones conductuales y neurobiológicas producidas por la exposición repetida a los psicoestimulantes.

1.1.1 LAS DROGAS COMO REFORZADORES

La autoadministración de drogas fuera de una indicación terapéutica o prescripción médica, es probablemente tan vieja como la civilización misma, lo que

testifica que las drogas tienen propiedades reforzantes. Los efectos de las drogas pueden incrementar la probabilidad de una conducta, es decir, las conductas que terminan en la administración de una droga adictiva se incrementan en frecuencia debido a los efectos del reforzamiento positivo. Adicionalmente, cuando una persona tiene los síntomas de retirada o abstinencia, la administración de la droga produce la terminación de esos síntomas y los efectos de la droga se convierten en poderosos reforzadores negativos. En ambos casos, las conductas que preceden a la administración de las drogas se fortalecen y se incrementan en probabilidad de ocurrencia bajo situaciones similares en que las drogas fueron consumidas (Hursh y Winger, 1995; Meisch y Carroll, 1981).

Adicional a los efectos reforzantes de las drogas adictivas, la administración de estas, provoca sentimientos placenteros lo cual indica que tienen también propiedades gratificantes o de recompensa (Di Chiara, 1999). Estas últimas propiedades de las drogas adictivas, no necesariamente consisten en sensaciones de placer absoluto como la euforia (el típico pasón) o el incremento en actividad que produce la administración intravenosa de los psicoestimulantes como la cocaína, sino que toma formas intermedias de placer, como el alivio de la tensión, la reducción de la fatiga, el aumento en excitación y en la mejoría en ejecuciones conductuales.

Las drogas adictivas, al igual que los reforzadores naturales como la comida, el agua y el sexo, comparten la propiedad de estimular el sistema de recompensa del cerebro causando euforia y reforzando conductas. En el caso de los reforzadores naturales, hay un cambio rápido o habituación después de pocas experiencias con ellos. Sin embargo, las respuestas a las drogas adictivas, no son influidas por la habituación, y cada dosis de estas drogas estimula el sistema de recompensa del cerebro (Camí y Farré, 2003).

1.1 SISTEMA DE RECOMPENSA DEL CEREBRO

Tanto los reforzadores naturales como la administración de drogas adictivas, estimulan el sistema de recompensa del cerebro al aumentar los niveles extracelulares de dopamina (DA) en el núcleo accumbens (NAcc) (Koob et al., 1998).

El sistema de recompensa del cerebro está constituido por varias estructuras, siendo el componente central, una vía neuronal DAérgica que interconecta estructuras de la parte media del cerebro (hipotálamo, área tegmental ventral (ATV)) con estructuras en la parte frontal del cerebro (corteza frontal y sistema límbico). Aunque el sistema de la DA es complejo, las vías DAérgicas en el sistema nervioso central pueden ser divididas en 2 sistemas mayores, el sistema nigroestriatal y el sistema mesocorticolímbico que va del ATV y proyecta al córtex prefrontal, hipocampo, amígdala y NAcc. El sistema mesocorticolímbico puede a su vez dividirse en dos subsistemas, que se encuentran determinados por la localización de los cuerpos celulares dentro del ATV y sus áreas de proyección. La primera de las divisiones, el sistema mesolímbico, es la que proyecta hacia el NAcc y es la asociada con la recompensa, actividad motora y la adicción a las drogas (Adell y Artigas, 2004). Esta vía está constituida por los cuerpos de neuronas DAérgicas en el ATV que proyectan axones al NAcc, que pertenece al sistema límbico. El sistema límbico es una red de estructuras asociadas al control de las emociones, la recompensa, el reforzamiento, la conducta y la memoria.

Las neuronas que se originan en el ATV liberan DA para regular la actividad de las células en el NAcc y la corteza prefrontal. Otros componentes del sistema de recompensa del cerebro incluyen las conexiones del NAcc con otras estructuras límbicas como la amígdala y el hipocampo. Adicionalmente, la actividad de las neuronas del ATV está regulada por axones provenientes del NAcc. Finalmente, otras vías neuronales que contienen diferentes neurotransmisores, como la serotonina, el ácido gamma aminobutírico y el glutamato, regulan la actividad del

sistema mesocorticolímbico de la DA (ver figura 1) y están también implicadas en las propiedades reforzantes o de recompensa de las drogas adictivas (ver revisión de Koob, 1992).

CONEXIONES NEURONALES DEL SISTEMA MESOCORTICOLÍMBICO DE LA DA

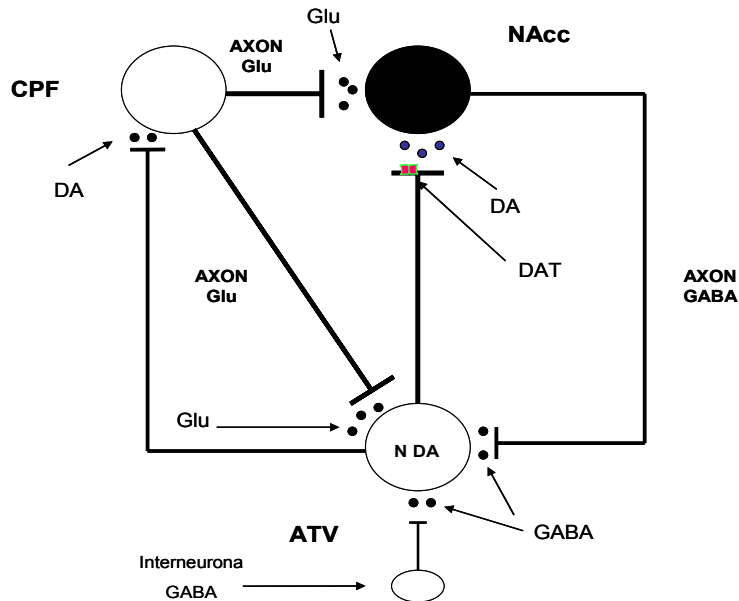


Figura 1. Esquema simplificado que muestra las conexiones neuronales del sistema mesocorticolímbico de la DA y que involucra el ATV, el Nacc y la Corteza Prefrontal (CPF). Al menos 3 neurotransmisores están involucrados en estas conexiones; la DA, el GABA y el Glu.

1.3 MECANISMO NEUROBIOLÓGICO DE LA ADICCIÓN A LOS PSICOESTIMULANTES

Una meta prioritaria de la investigación en neurociencias, es dilucidar los mecanismos neurobiológicos de las drogas adictivas para combatir la adicción a las drogas. En el caso particular de los psicoestimulantes como la cocaína, la ANF y sus derivados, hay evidencia de que su mecanismo neurobiológico implica un aumento en la neurotransmisión de la DA dentro del sistema mesolímbico. En particular, la activación del circuito de la DA, que surge del ATV para inervar en el

NAcc, juega un papel importante en los efectos reforzantes y adictivos de la ANF y la cocaína. En ese circuito, tanto la ANF como la cocaína tienen el efecto funcional de aumentar los niveles de DA en el espacio intersináptico, aún cuando su mecanismo de acción es diferente. De hecho, muchos psicoestimulantes pueden ser clasificados en liberadores y bloqueadores de la recaptura de la DA. Por ejemplo, la cocaína se une al transportador de la recaptura de la DA, un miembro de la familia de transportadores de 12 dominios transmembranales que dependen de Na^+/Cl^- que incluye también a los transportadores de la recaptura de la norepinefrina y la serotonina, e inhibe la recaptura de la DA, mientras que la ANF actúa sobre los transportadores de las vesículas promoviendo así un incremento en la concentración citoplasmática de DA e invirtiendo el transportador de la DA membranaral para facilitar el flujo hacia el espacio intersináptico (Riddle, Fleckenstein y Hanson, 2005). Algunos han reportado que en los ratones que carecen del transportador de la recaptura de la DA como consecuencia de una manipulación experimental, la ANF no aumenta los niveles intersinápticos de DA (Giros et al., 1996). El efecto funcional de la inhibición de la recaptura de la DA, es prolongar la estimulación normal de los receptores de la DA en el NAcc (Koe, 1976).

CAPITULO II

SISTEMAS DE NEUROTRANSMISIÓN MEDIADORES

Cuando las drogas inician sus mecanismos en el cerebro, ya sea activando un receptor, alterando el tono endógeno de un neurotransmisor o bloqueando el transportador de membrana, inician una cascada de eventos que aumentan o disminuyen la actividad de circuitos neuronales específicos. Estos efectos podrían ser limitados a un neurotransmisor y un área cerebral o podrían ser mucho más amplios. A pesar de la evidencia sobre el mecanismo de acción de los psicoestimulantes, la utilización de compuestos DAérgicos no ha producido intervenciones terapéuticas exitosas para el tratamiento de la dependencia a los psicoestimulantes como la cocaína, la ANF y compuestos relacionados. En principio, el desarrollo de nuevas estrategias farmacológicas se enfocaron en la manipulación del sistema mesolímbico de la DA, actuando directamente en los sitios de enlace de la DA como los receptores DAérgicos en el NAcc o en el transportador de la recaptura de la DA (Rothman y Glowa, 1995). Sin embargo, se ha sugerido que una estrategia alternativa para intervenir en los efectos reforzantes y adictivos de esos compuestos podría implicar la manipulación de aferentes no DAérgicos que modulan la función mesolímbica de la DA.

2.1 INFLUENCIA DE LA SEROTONINA SOBRE EL SISTEMA DE LA DOPAMINA

Se ha sugerido que un candidato es el sistema de la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT). Aunque se conocen al menos 16 subtipos de receptores para la 5-HT (ver Hoyer et al., 2002), sólo algunos podrían estar involucrados en la modulación de la DA en el sistema mesolímbico. Una serie de estudios electrofisiológicos, bioquímicos y conductuales han mostrado claramente que los receptores 5-HT_{2C} juegan un papel importante en el control de la DA en el sistema mesolímbico (Di Matteo et al., 2001; Filip y Cunningham, 2002). También se ha

reportado que la activación de los receptores 5-HT_{1B} modula las propiedades discriminativas de la cocaína (Callahan y Cunningham, 1995). No obstante, otros estudios han reportado que los receptores 5-HT_{1A} no regulan las propiedades discriminativas de los psicoestimulantes como la cocaína (De la Garza et al., 1998),

En nuestro laboratorio hemos estado utilizando una estrategia conductual para evaluar el papel de los receptores 5-HT_{1B}, 5-HT_{2C} y 5-HT_{3/4} en las propiedades discriminativas de la ANF con el propósito de averiguar la influencia del sistema 5-HTérgico sobre el sistema DAérgico. Nuestros datos han mostrado que los agonistas 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} como el RU24969, el mCPP y el MK212 sólo substituyen parcialmente a la ANF (Miranda et al., 2005). Sin embargo, cuando una dosis pequeña de ANF se administra en conjunto con una dosis de los agonistas RU24969 o mCPP que substituyen parcialmente a la ANF, el efecto que se observó fue la substitución total de la dosis de entrenamiento de la ANF (Velázquez-Martínez et al., 2004). Lo anterior sugiere que los compuestos 5-HTérgicos sólo modulan parcialmente a los efectos conductuales de los psicoestimulantes como la ANF y son poco prometedores en el tratamiento de la adicción a los psicoestimulantes (Gorelick, Gardner y Xi, 2004)

2.2 INFLUENCIA DEL GLUTAMATO SOBRE EL SISTEMA DE LA DOPAMINA

Actualmente existe evidencia de que el sistema del glutamato (Glu) juega un papel central en los procesos de desarrollo y mantenimiento de la adicción a las drogas (Tzchentke y Schmidt, 2003, Kalivas, 2004). Este papel está relacionado directamente con la modificación de la actividad del sistema DAérgico. El sistema mesolímbico de la DA está intrincadamente conectado con estructuras Gluérgicas o sus eferentes. Tanto los cuerpos celulares de neuronas DAérgicas en el ATV y sus terminaciones en el NAcc reciben proyecciones Gluérgicas de varias estructuras límbicas como la amígdala, la corteza prefrontal y el hipocampo,

estructuras que están relacionadas con aspectos de la recompensa, el condicionamiento y el aprendizaje (Everitt et al., 1999). La interacción entre el sistema del Glu y el de la DA en el ATV y el NAcc es compleja, ya que involucra proyecciones eferentes Gluéricas al ATV aumentando la actividad de las neuronas DAérgicas e incrementando la liberación de DA en el Nacc (Tzschentke, 2001). Lo anterior permitió sugerir la hipótesis de que la activación o bloqueo de los receptores Gluéricos podrían regular varias acciones conductuales de las drogas adictivas, entre ellas, las propiedades reforzantes, de recompensa y discriminativas (Kenny y Marku, 2004). Aunque inicialmente se evaluó el papel de antagonistas de receptores ionotrópicos del Glu en la hiperlocomoción provocada por cocaína (Uzabay et al., 2000), recientemente también se exploró el papel que juegan los receptores metabotrópicos del Glu en algunas propiedades conductuales de los psicoestimulantes. Por ejemplo, Chiamulera et al. (2001) reportaron que los ratones a los que le falta el gen que codifica a los receptores metabotrópicos 5 del Glu (mGluR5) no se autoadministran cocaína ni muestran un aumento en la locomoción después del tratamiento con cocaína. Adicionalmente, se ha reportado que el bloqueo de los mGluR5 por el antagonista 6-metil-2-(feniletinil)piridina (MPEP) inhibe los efectos conductuales de la cocaína y la ANF relacionados con su abuso (Le et al., 2005; McGeehan, Janak y Olive, 2004). Nosotros hemos reportado recientemente que el antagonista MPEP anula las propiedades discriminativas de la ANF (Miranda et al., 2006).

Esto sugiere que los receptores mGluR5 podrían estar involucrados en neuroadaptaciones que ocurren después de la administración de psicoestimulantes como la cocaína y la ANF, y podrían representar un blanco potencial para la farmacoterapia de la adicción a las drogas (Tessari et al., 2004).

2.3 INFLUENCIA DEL ÁCIDO GAMMA AMINO BUTÍRICO SOBRE EL SISTEMA DE LA DOPAMINA

Se ha sugerido que no solamente los sistemas de la 5-HT y el Glu modulan al sistema mesolímbico de la DA, sino que otro sistema de neurotransmisión cerebral también está implicado en la regulación de la DA en el ATV y el NAcc. Este sistema es el del ácido gamma aminobutírico (GABA, por sus siglas en inglés).

Esta bien documentado que el GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central de los mamíferos (De Feudis, 1977) y que los sitios receptores del GABA se han dividido en dos tipos; los receptores ionotrópicos, que incluyen a los receptores GABA_A y GABA_C, y los receptores metabotrópicos GABA_B (Borman, 2000; Chebib y Johnston, 1999). Datos de investigaciones con métodos electrofisiológicos, bioquímicos y conductuales recientes, indican que el sistema del GABA interactúa y modula al sistema de la DA en el ATV y el NAcc (Klitenick, DeWitte, Kalivas, 1992; Westerink, Kwint y deVries, 1996), aunado a esto se ha reportado también que los agonistas GABAérgicos pueden atenuar los efectos reforzantes de la cocaína, la heroína, la nicotina y el alcohol (ver revisión de Brebner, Childress y Roberts, 2002). De esta forma, los agonistas indirectos del GABA, las benzodiazepinas y los agonistas GABA_B influyen en los efectos conductuales de la cocaína. Sin embargo, como lo señalan Brebner, Childress y Roberts (2002), no es aún claro cual de los tipos de receptores GABAérgicos está críticamente implicado en los efectos reforzantes de los psicoestimulantes, aunque algunas investigaciones han reportado que los agonistas GABA_B son efectivos en atenuar la autoadministración de cocaína y ANF (Brebner, Phelan y Roberts, 2000; Brebner, Ahn y Phillips, 2005). El mecanismo podría ser el siguiente: la activación de los receptores GABA_B localizados en los cuerpos celulares de neuronas DAérgicas en el ATV produciría una hiperpolarización de estas neuronas que inhibiría la liberación de DA en el NAcc y, por lo tanto, se atenuarían los efectos conductuales de los psicoestimulantes (Brebner, Ahn y Phillips, 2005).

CAPITULO III

MÉTODOS CONDUCTUALES PARA EL ESTUDIO DE LAS DROGAS

Uno de los métodos conductuales que se utiliza dentro de la neurofarmacología conductual para el estudio del funcionamiento de los psicoestimulantes son los procedimientos de discriminación de drogas, que han demostrado ser de utilidad en la investigación de las relaciones entre el sistema mesolímbico de la DA y otros sistemas como el de la 5-HT, el Glu y el GABA. Dicha sugerencia está apoyada por el hecho de que la mayoría de las drogas adictivas producen poderosos estímulos internos y son parte de la percepción subjetiva que de ellos se tiene (Colpaert, 1987). Estos estímulos internos pueden adquirir control discriminativo sobre algún tipo de comportamiento. En las líneas siguientes, se describen algunos de los métodos en esta área.

3.1 DISCRIMINACIÓN DE DROGAS

Diversas drogas tienen la capacidad de servir como estímulos discriminativos. Durante los últimos 40 años se han desarrollado y refinado diversos métodos para estudiar las propiedades discriminativas de las drogas en animales de laboratorio. En estos procedimientos, los animales son entrenados a emitir una respuesta (por ejemplo, a presionar la palanca izquierda en una cámara de condicionamiento operante), después de la administración de una dosis específica de una droga (llamada droga de entrenamiento o dosis de entrenamiento), y a emitir una respuesta diferente (por ejemplo, presionar la palanca derecha) después de la administración del vehículo de la droga de entrenamiento (ver figura 2). Hay una variedad de formas para reforzar la discriminación, la más común es la entrega de comida a animales privados de ésta.

ENTRENAMIENTO DE DISCRIMINACIÓN DE DROGAS.

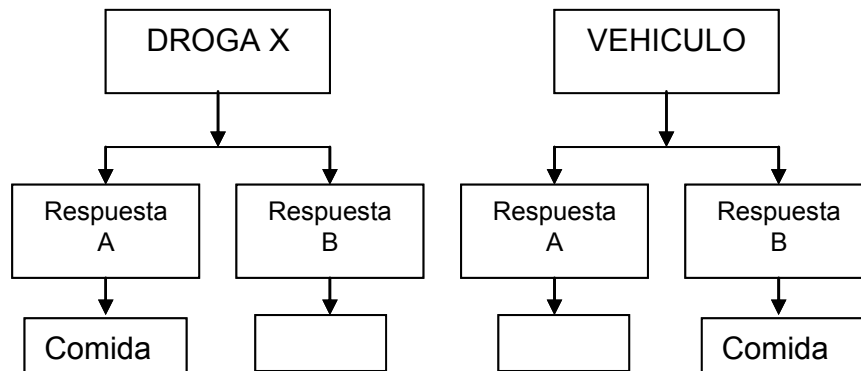


Figura 2. Entrenamiento de discriminación de drogas. Los animales, usualmente ratas, ratones o primates, se entrenan por medio del reforzamiento diferencial a presionar una palanca específica después de la administración de la droga de entrenamiento y a presionar otra palanca después de la administración del vehículo de la droga. Las respuestas apropiadas son reforzadas con comida.

Con este tipo de entrenamiento, los animales alcanzan un alto grado de precisión (entre el 80 y el 100% de respuestas apropiadas a la condición). La figura 3 muestra un ejemplo de los resultados de este tipo de entrenamiento.

Una vez que los animales de experimentación aprendieron la discriminación droga-vehículo, se llevan a cabo pruebas de generalización o sustitución, donde se evalúan otras dosis de la droga de entrenamiento u otras drogas para determinar si estas dosis o nuevas drogas producen respuestas apropiadas a la droga de entrenamiento (ver figura 3). El porcentaje de respuestas a la palanca asociada a la droga de entrenamiento después de la administración de una dosis diferente de la droga de entrenamiento o una droga nueva, determina el grado de generalización o sustitución. Comúnmente, si este porcentaje es de más del 80% se dice que hay una sustitución total. Si el porcentaje es de menos de 80% pero mayor a 30%, se dice que hay una sustitución parcial. Por el contrario, si el porcentaje es menor a 30%, se dice que no hay sustitución. La interpretación de

los resultados de las pruebas de generalización o sustitución es que si una droga de prueba produce sustitución total, es que tiene mecanismos neurobiológicos de acción similares a la droga de entrenamiento. Otra medida importante en las pruebas de sustitución es el número total de respuestas en las dos palancas, la asociada a la droga de entrenamiento y la asociada al vehículo de la droga. Si el total de respuestas es muy bajo, significa que la droga de prueba produce alteraciones motoras generales.

ADQUISICIÓN DE LA DISCRIMINACIÓN D-ANFETAMINA-SALINA

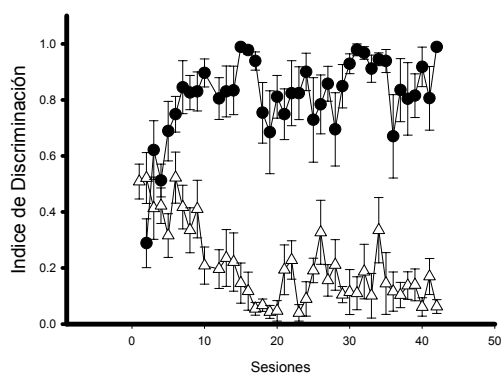


Figura 3. Se muestran los resultados del entrenamiento discriminativo utilizando d-anfetamina como estímulo discriminativo. En la abscisa se presenta el número de sesiones y en la ordenada el índice de discriminación. Este índice se obtiene dividiendo el número de respuestas apropiadas a la palanca asociada a la droga entre el número total de respuestas a ambas palancas. Así, un índice cercano a 1.0 indica discriminación y un índice cercano a 0.0 indica no discriminación. Con círculos cerrados se presentan las sesiones en las que se administró d-anfetamina (1.0 mg/kg) y con triángulos abiertos se presentan las sesiones en las que se administró solución salina (datos proporcionados por el Dr. David N Velázquez-Martínez). Como se puede notar, los animales aprendieron la discriminación d-anfetamina-salina.

Adicionalmente, se puede evaluar si una droga nueva produce potenciación o antagonismo de los efectos de la droga de entrenamiento al evaluar el pretratamiento de esta nueva droga en pruebas de combinación. Así, los procedimientos de discriminación de drogas ofrecen un poderoso método *in vivo*

para identificar los mecanismos neurobiológicos y neuroquímicos que median las drogas que afectan el comportamiento (Colpaert, 1997).

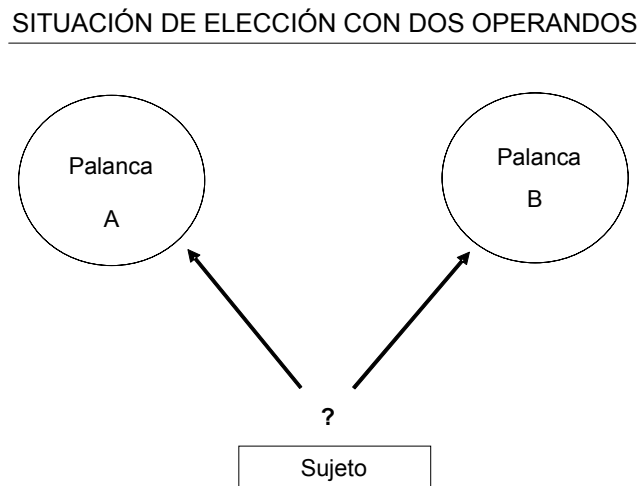


Figura 4. La elección de una de las palancas está en función de la similitud de los efectos de la droga de prueba con los efectos de la droga de entrenamiento. A mayor similitud, mayor número de respuestas a la palanca asociada a la droga de entrenamiento, a menor similitud, mayor número de respuestas a la palanca opuesta.

3.2 CONDICIONAMIENTO AVERSIVO A LOS SABORES

Los procedimientos de discriminación de drogas con técnicas operantes resultan muy eficaces. Sin embargo, una desventaja de este tipo de procedimientos es que requieren semanas o meses de entrenamiento antes de que la discriminación sea estable. Un método alternativo es utilizar el condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) para generar una línea base conductual para el aprendizaje de discriminación de drogas.

El primer estudio reportado en esta área fue el de Revusky et al. (1982). sin embargo, los resultados mostraron poca evidencia de que los animales aprendieron la discriminación debido principalmente a la complejidad de las

relaciones entre los eventos presentados a los animales. En investigaciones posteriores se simplificó el diseño experimental encontrando que los animales aprenden rápidamente una discriminación utilizando el procedimiento del CAS:

Droga (E^D) → Sacarina → LiCl

Vehículo (E^A) → Sacarina → NaCl

En este procedimiento, la presencia de los efectos de la droga señala los apareamientos sacarina-LiCl, mientras que la ausencia de tales efectos señala los apareamientos sacarina-NaCl. Bajo estas circunstancias las ratas aprenden rápidamente la discriminación evitando el consumo de sacarina después de la administración de la droga, pero consumiendo la sacarina después de la administración del vehículo. Así, algunos estudios han reportado que las ratas entrenadas a discriminar droga de salina, muestran una generalización dependiente de la dosis, cuando la dosis de la droga de entrenamiento se substituye por otras dosis de la misma droga o por otras dosis de otra droga que se conoce que actúa en los mismos receptores que la droga de entrenamiento. Además, la generalización se bloquea cuando previo a la administración de la droga de prueba se administra un antagonista que bloquea al receptor en el que actúa la droga de entrenamiento. Así, el patrón de generalización refleja el sitio receptor a través del cual la droga de entrenamiento produce sus efectos conductuales. Mediante el procedimiento del CAS se entrena a los animales de laboratorio a discriminar la droga de salina utilizando dos tipos de ensayos. En los ensayos droga, los apareamientos de sacarina-litio son precedidos por la administración de la droga de entrenamiento y en los ensayos salina, los apareamientos sacarina-salina son precedidos por la administración del vehículo de la droga. Bajo estas condiciones los animales aprenden rápidamente a discriminar la droga de su vehículo y en pruebas de generalización la droga de entrenamiento se substituye por otras drogas.

Diversos estudios han reportado la utilidad del CAS para entrenar la discriminación de drogas utilizando un amplio rango de compuestos que incluyen; la fenciclidina (Mastropaolo et al., 1989), agonistas serotoninérgicos (Lucki, 1988), morfina (Martin et al., 1990), fentanil (Jaeger y Mucha, 1990), pentobarbital (Riley et al., 1989), ANF (Miranda y Velázquez-Martínez, 1997) e indorrenato (Miranda et al., 2001), entre otros. En numerosas investigaciones, incluidas las de nuestro laboratorio, se ha demostrado que este procedimiento es confiable, selectivo y sensitivo para evaluar los efectos conductuales de drogas psicoactivas, así como también se ha demostrado que es una poderosa técnica *in vivo* para estudiar los mecanismos neuronales y de receptores que subyacen a los efectos de drogas como los estimulantes y otras (Colpaert, 1997).

3.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del Sistema Nervioso Central y ha sido estudiado en relación a la neurobiología de las adicciones. La evidencia científica ha reportado que el agonista GABA_B Baclofen reduce las propiedades reforzantes de la cocaína (Roberts y Andrews, 1997), la nicotina (Fattore et al., 2002) y reduce los puntos de ruptura generados con programas de razón progresiva reforzados con cocaína (ver revisión de Roberts y Brebner, 2000). También se ha reportado que el Baclofen disminuye las autoadministraciones de ANF (Brebner et al., 2005). Estos resultados aunados a otros estudios indican un papel potencialmente importante para los receptores GABA_B en los efectos conductuales relacionados con el abuso de los psicoestimulantes, por lo que sería importante evaluar los efectos del Baclofen en las propiedades discriminativas de la ANF.

3.4 OBJETIVO

El presente estudio se diseñó para evaluar si la administración de Baclofen altera las propiedades discriminativas de la ANF con la finalidad de averiguar si la neurotransmisión GABAérgica modula una de las conductas relacionadas con la adicción a los psicoestimulantes. Adicionalmente, se evaluó la administración de 2-hidroxisaclofen, antagonista selectivo GABA_B, para determinar si los efectos del Baclofen sobre las propiedades discriminativas de la ANF son mediados específicamente por los receptores GABA_B.

CAPITULO IV

MÉTODO

4.1 SUJETOS

Se utilizaron 10 ratas macho de la cepa Wistar de aproximadamente 120 días de edad al inicio de la investigación, cuyo peso corporal fue entre 200 a 250 g al inicio del experimento, provenientes del Bioterio General de FES-Iztacala. Las ratas se alojaron individualmente en cajas-hogar de acrílico con tapas de acero inoxidable y bajo un ciclo luz-oscuridad controlado (luz: 8:00 am-8:00 pm) y a una temperatura ambiente de 23 °C (± 1). La comida siempre estuvo disponible.

4.2 APARATOS Y ESCENARIO EXPERIMENTAL

Se utilizaron cajas-hogar de acrílico de 30x20x20 cm. En las cuales se colocaron una o dos probetas graduadas de acuerdo a si era ensayo o prueba respectivamente. Las probetas fueron colocadas en la pared frontal de la caja, a través de las cuales las ratas tuvieron acceso a los líquidos. Las sesiones se llevaron a cabo en un cuarto de 4 x 4 m, iluminado por dos lámparas de luz fluorescente de 100 W cada una y con un ruido blanco para enmascarar ruidos.

4.3 DROGAS

Las drogas que se utilizaron en esta investigación fueron sulfato de d-anfetamina, (\pm)Baclofen (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 2-hidroxisaclofen (Tocris, Ballwin, MO, USA) y LiCl (Baker, Mexico). El Baclofen y la d-anfetamina fueron disueltos en agua y el 2-hidroxisaclofen fue disuelto en una solución isotónica de glucosa al 5%. Todas las drogas fueron administradas intraperitonealmente (ip: 1 ml/Kg). EL LiCl fue administrado a una dosis de 0.34 mEq (2.0 ml/Kg de solución al 0.177 M). La solución de sacarina al 0.15% (Elly Lilly, México) fue disuelta en agua destilada y preparada diariamente.

Las dosis de sulfato de d-anfetamina, (\pm)Baclofen y 2-hidroxisaclofen se calcularon de acuerdo al peso de la sal y se administraron en un volumen de 1.0 ml/kg. La ANF y Baclofen se administraron 30 min antes de iniciar las sesiones experimentales y el 2-hidroxisaclofen se administró 5 min antes de la administración del Baclofen y la ANF.

4.4 PROCEDIMIENTO

Habitación al consumo de agua. A su llegada al laboratorio, a todos los sujetos se les restringió el consumo de agua a un período de 20 minutos al día durante 7 días, con la finalidad de entrenar a los animales a beber únicamente en ese período.

Habitación al consumo de sacarina. Después de la habitación al consumo de agua, a todos los sujetos se les permitió consumir la solución de sacarina por un período de 10 minutos al día durante 2 días consecutivos, con la finalidad de que se habituaran al consumo de un líquido novedoso.

Adquisición de la discriminación ANF-salina. El procedimiento para adquirir la discriminación ANF-salina constó de dos tipos de ensayos:

Ensayos droga. A las ratas se les administró 1.0 mg/kg de ANF y 30 minutos después se les permitió el acceso a la sacarina durante 10 minutos. Después de este período, se les administró 2.0 ml/kg de 0.17 M de LiCl.

Ensayos salina. A las ratas se les administró salina y 30 minutos después se les permitió el acceso a la sacarina durante 10 minutos. Después de finalizar éste período, se les administró nuevamente 1.0 ml/kg de salina.

Entre los ensayos droga y los ensayos salina hubo dos días de descanso, donde se les permitió el acceso al agua simple durante 30 minutos en las cajas-hogar. El

ciclo ensayo droga-ensayo salina se repitió 9 ocasiones en un orden aleatorio, con la restricción de que no tuvieran lugar más de dos ensayos droga consecutivos.

Pruebas de generalización. Comenzaron 2 días después de finalizar la adquisición de la discriminación ANF-salina y se hicieron sobre un ciclo de 4 días. En el día 1, se sometió a las ratas a un procedimiento similar al ensayo droga. En el día 2, a los sujetos se les permitió consumir agua simple durante 30 minutos en sus cajas-hogar. El día 3 fue similar a los ensayos salina. El día 4 fue de prueba, la cual consistió en administrar una dosis de las drogas de prueba. El procedimiento fue similar al utilizado en el día 1 con excepción de que se utilizó una prueba de dos botellas. Esta prueba consistió en permitirles el acceso durante 10 minutos a dos botellas, una con agua simple y otra con sacarina. Con cada droga evaluada se ajustó el tiempo entre su administración y el inicio del acceso a las dos botellas con objeto de tener el máximo efecto farmacológico, según se ha descrito en la literatura. Las drogas y dosis que se utilizaron el día 4 fueron ANF (0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg), Baclofen (agonista GABA_B; 1.0, 3.0 y 5.6 mg/kg), Baclofen (1.0, 3.0 y 5.6 mg/kg)+ANF (1.0 mg/kg) o 2-hidroxisaclofen (antagonista GABA_B; 0.3, 1.0 y 3.0 mg/kg)+Baclofen (5.6 mg/kg) + ANF (1.0 mg/kg). La secuencia de las drogas y sus dosis se eligió al azar y el ciclo de 4 días se repitió hasta que todas las dosis de las drogas de prueba se evaluaron. También se evaluó la dosis de entrenamiento de la ANF (1.0 mg/kg) y la administración de salina antes de iniciar la evaluación de cada droga.

4.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN					
Hab. agua	Hab. sacarina		Adquisición de la discriminación	Pruebas de sustitución	Pruebas de combinación
		E. Droga	Anfetamina-sacarina-LiCl	-Anfetamina -Baclofen	-Baclofen+ANF -2-Hidroxisaclofen+Baclofen+ANF
		E. Salina	Salina-sacarina-salina		

4.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se registró el consumo de sacarina en los ensayos droga y los ensayos salina y se analizó con un ANOVA de dos factores, con los tipos de ensayos (ensayo droga-ensayo salina) como primer factor y el número de ensayo (se analizaron los últimos tres ensayos de cada condición) como segundo factor. También se registró el consumo de líquidos en las pruebas de sustitución. A partir de estos datos se calculó un índice de discriminación, el cual se obtuvo con la fórmula $A/A+B$; donde A fue el consumo de sacarina y B fue el consumo de agua. Con este índice, un valor de 1.0 indicó preferencia por la sacarina y un valor de 0.0 una aversión por la sacarina. Estos datos se analizaron usando un ANOVA de una vía; cuando los ANOVAs fueron significativos, se llevó a cabo un análisis de comparaciones posteriores con la prueba Newman Keuls. En todas las pruebas, el nivel de rechazo del error tipo I fue de 0.05.

CAPITULO V

RESULTADOS

5.1 ADQUISICIÓN DE LA DISCRIMINACIÓN ANF-SALINA

La figura 5 muestra el consumo de sacarina durante los ensayos droga y los ensayos salina. Como puede observarse, el consumo de sacarina durante la línea base, el primer ensayo droga y el primer ensayo salina fue igual ($F[2,27]=0.474$, $p>0.05$). También puede observarse que durante los ensayos en que se administró la ANF seguido por los apareamientos sacarina-LiCl se produjo una reducción del consumo de sacarina. El ANOVA factorial mostró diferencias significativas al comparar el consumo de sacarina de los últimos tres ensayos droga con el consumo de sacarina de los últimos tres ensayos salina. Las diferencias se debieron al tipo de ensayo ($F[1,54]=49.63$, $p<0.0001$), ya que el número de ensayo ($F[2,54]=0.119$, $p>0.05$) y la interacción tipo de ensayo y número de ensayo ($F[2,54]=0.085$, $p>0.05$) no fueron significativas. Las comparaciones *a posteriori* indicaron que el consumo de sacarina en cada uno de los últimos tres ensayos droga difirió significativamente con el consumo de sacarina de cada uno de los últimos tres ensayos salina.

ADQUISICIÓN DE LA DISCRIMINACIÓN ANFETAMINA-SALINA

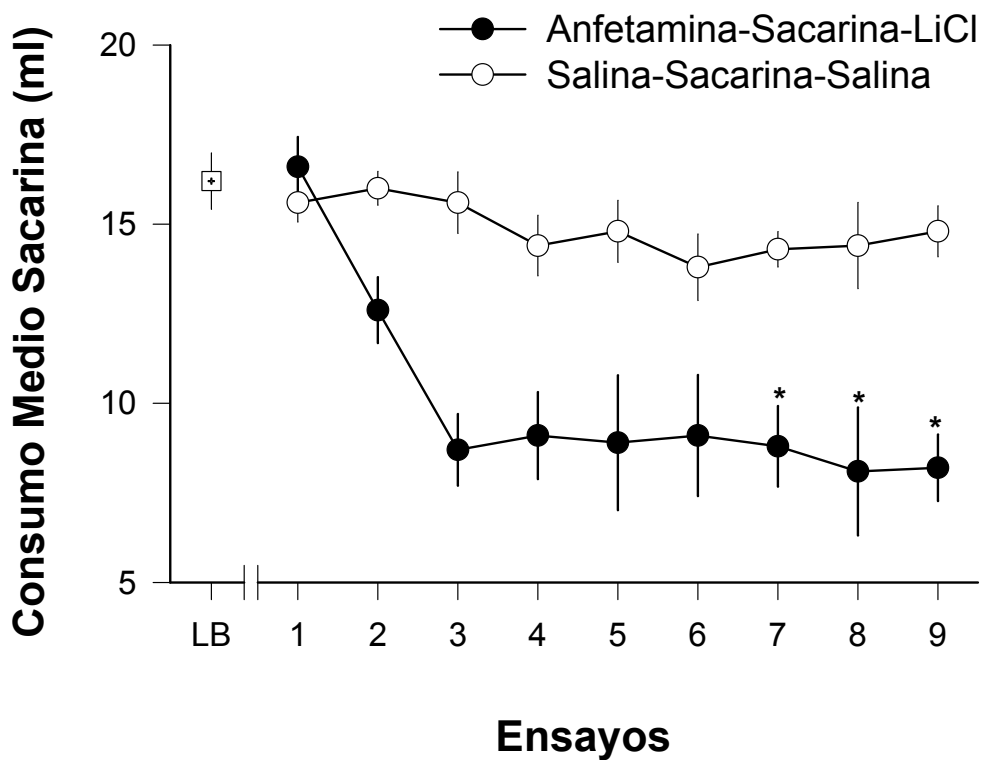


Figura 5. Adquisición de la discriminación anfetamina-salina. Los círculos representan el consumo medio de sacarina ($n=10$) \pm el error estándar de la media durante los ensayos droga y los ensayos salina. LB indica la línea base del consumo de sacarina. Los asteriscos indican diferencias significativas respecto a los correspondientes ensayos salina ($p < 0.05$ Newman-Keuls).

5.2 PRUEBAS DE GENERALIZACIÓN CON ANFETAMINA

La figura 6 muestra los resultados de las pruebas de sustitución con ANF. Como se puede notar, las diferentes dosis de ANF evaluadas en las pruebas de dos botellas produjeron una sustitución dependiente de la dosis. Un ANOVA de una vía reveló diferencias significativas en la preferencia por la sacarina ($F[4,45]=12.036$, $p<0.001$). Las comparaciones *a posteriori* con la prueba Newman-Keuls revelaron que la preferencia por la sacarina cuando se administraron las dosis de 0.1, 0.3 mg/kg de ANF o salina difirió significativamente con la preferencia por la sacarina obtenida durante la administración de la dosis de entrenamiento de ANF.

5.3 PRUEBAS DE GENERALIZACIÓN CON COMPUESTOS GABA_B

La figura 6 también muestra los resultados de las pruebas de sustitución con Baclofen y 2-hidroxisaclofen. Como se puede notar, ninguna de las dosis de estos compuestos substituyó a la ANF. Un ANOVA de una vía reveló diferencias significativas para el Baclofen ($F[4,45]=11.659$, $p=0.001$) y para el 2-hidroxisaclofen ($F[4,45]=8.540$, $p=0.001$). Las comparaciones *a posteriori* con la prueba Newman-Keuls revelaron que la preferencia por la sacarina durante todas las dosis de Baclofen y 2-hidroxisaclofen fue diferente de la preferencia por la sacarina observada durante la administración de la dosis de entrenamiento de la ANF.

PRUEBAS DE SUBSTITUCIÓN

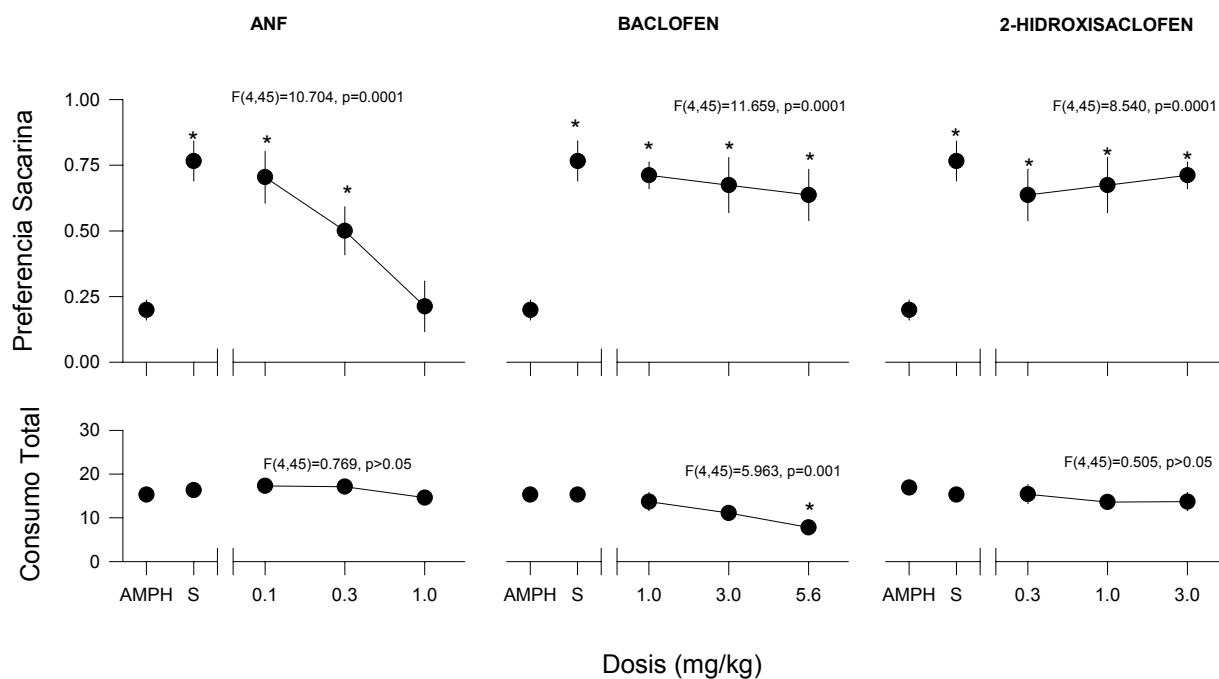


Figura 6. Resultados de las pruebas de sustitución en ratas entrenadas a discriminar anfetamina (1.0 mg/kg) de salina. ANF y S indican los resultados de las pruebas de sustitución con la dosis de entrenamiento de anfetamina y salina, respectivamente. Los puntos representan el promedio de 10 ratas \pm el error estándar de la media. Los asteriscos indican diferencias con ANF.

5.4 PRUEBAS DE GENERALIZACIÓN CON BACLOFEN + ANF Y 2-HIDROXISACLOFEN + BACLOFEN + ANF.

En la figura 7 se muestran los resultados de las pruebas de sustitución con la administración de Baclofen y ANF. Como se puede notar, la administración de Baclofen anuló, dependiendo de la dosis, la señal discriminativa de la ANF. El ANOVA de una vía reveló diferencias significativas entre la preferencia por la sacarina durante la administración de la dosis de entrenamiento de ANF (1.0 mg/kg) y la administración de salina y las dosis de Baclofen previas a la administración de ANF ($F[3,36]=6.447$, $p<0.0001$). Las comparaciones *a posteriori* revelaron diferencias en la preferencia por la sacarina durante la administración de salina previa a la administración de ANF y la dosis más alta de Baclofen previa a la administración de la dosis de entrenamiento de ANF. En la figura 7 se puede notar también que la administración de 2-hidroxisaclofen redujo de manera dependiente de la dosis los efectos del Baclofen sobre la señal discriminativa de la ANF ($F[3,36]=7.059$, $p<0.001$).

5.5 CONSUMO TOTAL DE LÍQUIDOS DURANTE LAS PRUEBAS DE GENERALIZACIÓN.

El consumo de líquidos no fue alterado durante la administración de ANF ($F[4,45]=0.769$, $p>0.05$), 2-hidroxisaclofen ($F[4,45]=0.505$, $p<0.05$), Baclofen + ANF ($F[3,36]=0.252$, $p>0.05$) y 2-hidroxisaclofen + Baclofen + ANF ($F[3,36]=2.240$, $p>0.05$), excepto con la administración del Baclofen ($F[4,45]=0.470$, $p>0.05$)

PRUEBAS DE COMBINACIÓN

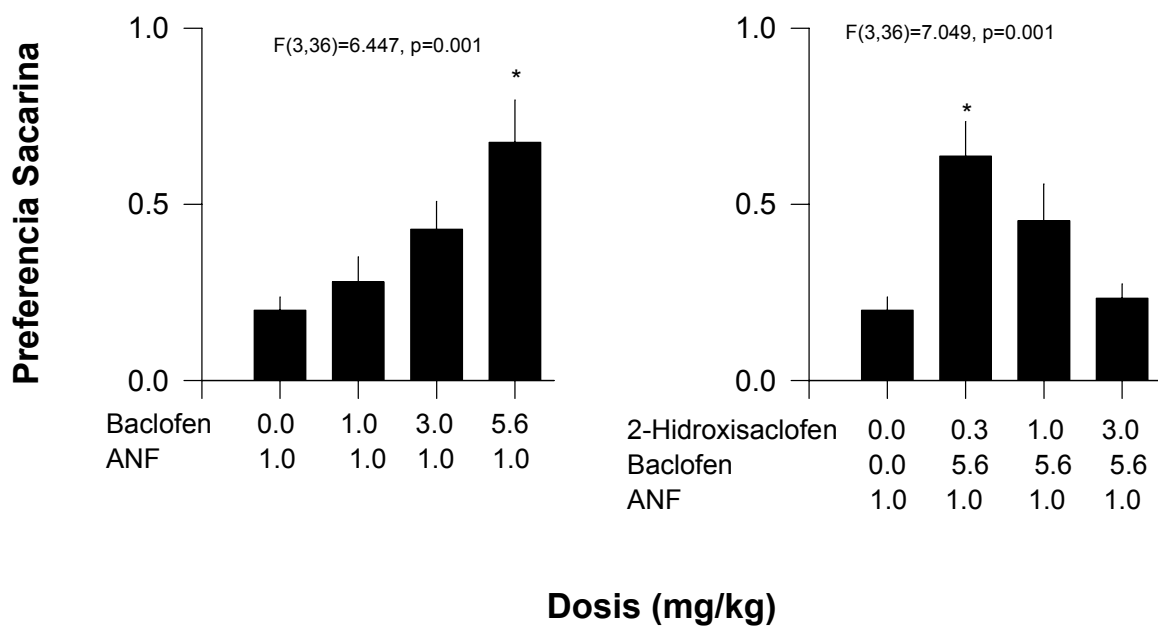


Figura 7. Resultados de las pruebas de combinación con ANF + Baclofen y 2-hidroxisaclofen + Baclofen + ANF. Las barras indican la preferencia por la sacarina de 10 ratas \pm el error estándar de la media. Los asteriscos indican diferencias significativas con los valores obtenidos con la dosis de entrenamiento de ANF en ausencia de alguna dosis de Baclofen y/o 2-hidroxisaclofen.

DISCUSIÓN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar si la administración de Baclofen altera las propiedades discriminativas de la ANF con la finalidad de averiguar si la neurotransmisión GABAérgica modula una de las conductas relacionadas con la adicción a los psicoestimulantes. Adicionalmente, se evaluó la administración de 2-hidroxisaclofen, antagonista selectivo GABA_B, para determinar si los efectos del Baclofen sobre las propiedades discriminativas de la ANF son mediados específicamente por los receptores GABA_B si la administración de Baclofen alteraba las propiedades discriminativas de la ANF. Los resultados obtenidos demostraron que la administración de ANF puede inducir un control discriminativo sobre el consumo de sacarina en un procedimiento de discriminación de drogas utilizando el CAS. Este control fue evidente en dos situaciones. La primera de ellas, fue durante el aprendizaje de discriminación ANF-salina, ya que cuando la administración de ANF precedió los apareamientos sacarina-LiCl, las ratas disminuyeron el consumo de sacarina. Sin embargo, el consumo de sacarina aumentó o se mantuvo al nivel basal, cuando la administración de salina precedió los apareamientos sacarina-salina. La segunda situación que evidencia el control discriminativo fue durante las pruebas de sustitución con diferentes dosis de ANF, las ratas mostraron un control discriminativo sobre el consumo de sacarina. Este control fue una función directa de las dosis de prueba de la ANF. A mayor similitud entre la dosis de prueba y la dosis de entrenamiento, menor preferencia por la sacarina. Estos datos son similares a los de estudios previos utilizando como droga de entrenamiento a la ANF (Miranda y Velázquez-Martínez, 1997; Miranda et al., 2005) o el indorrenato (Miranda et al., 2001).

En cuanto a los resultados de las pruebas de sustitución con Baclofen+ANF, estos mostraron que el Baclofen anuló la señal discriminativa de la ANF de forma dependiente de la dosis de Baclofen; la dosis más alta de Baclofen (5.6 mg/kg) anuló la señal discriminativa producida por 1.0 mg/kg de ANF. Estos resultados

son consistentes con los reportados en estudios previos que muestran que el Baclofen atenúa los efectos conductuales de los psicoestimulantes que están relacionados con la adicción. Por ejemplo, se ha reportado que el pretratamiento con Baclofen reduce la autoadministración de cocaína mantenida bajo un programa de razón fija (Brebner et al., 2000), bajo un programa de razón progresiva (Arnold y Roberts, 1997; Roberts et al., 1996; Roberts y Brebner, 2000), utilizando un procedimiento de ensayo discreto (Brebner et al., 1999) y bajo un programa de segundo orden (Di Ciano y Everitt, 2003). Además, también se ha reportado que el Baclofen atenúa la locomoción condicionada producida por cocaína (Hotsenpiller y Wolf, 2003). La administración de Baclofen no sólo disminuye los efectos conductuales de la cocaína y la ANF, también se ha reportado que disminuye los efectos relacionados con el consumo de alcohol (Colombo et al., 2002), nicotina (Paterson et al., 2004) y heroína (Di Ciano y Everitt, 2003).

Tomados juntos, estos resultados y los reportados en la presente investigación, sugieren que la activación de los receptores GABA_B con el agonista Baclofen disminuye los efectos conductuales de los psicoestimulantes.

Evidencia adicional sobre los mecanismos GABAérgicos en los efectos conductuales de los psicoestimulantes se obtuvo en la presente investigación. La administración de un antagonista selectivo de los receptores GABA_B, el 2-hidroxisaclofen, anuló los efectos del Baclofen sobre las propiedades discriminativas de la ANF. Otros han reportado que la administración del antagonista GABA_B CGP56433 atenúa los efectos del Baclofen sobre la autoadministración de cocaína mantenida por un programa de razón fija o un programa de razón progresiva (Brebner, Froestl y Roberts, 2002). Adicionalmente, otros han reportado que la administración de 2-hidroxisaclofen dentro del ATV bloquea los efectos del Baclofen sobre la autoadministración de heroína (Xi y Stein, 1999). Estos resultados y los nuestros confirman la idea de que los efectos

conductuales de los psicoestimulantes y otras drogas de abuso son mediados específicamente por la activación de los receptores GABA_B.

Los receptores GABA_B se encuentran localizados de forma presináptica y posinápticamente y pueden modular la liberación de neurotransmisores o inhibir la actividad de neuronas postsinápticas. También se encuentran como heterorreceptores que regulan la liberación de otros neurotransmisores como la DA y el Glu (Bettler et al., 2004). Existe evidencia que indica que los receptores GABA_B se encuentran localizados postsinápticamente en los cuerpos de neuronas DAérgicas en el ATV y cuando son activados, ejercen un control inhibitorio sobre la liberación de DA en el NAcc (Johnson y North, 1992; Kalivas, 1993; Wirtshafter y Shepard, 2001). Así, el mecanismo a través del cual el Baclofen atenuó la señal discriminativa en el presente experimento podría implicar la estimulación de los receptores GABA_B localizados en los cuerpos celulares de neuronas DAérgicas en el ATV que proyectan al NAcc. La administración de Baclofen induciría una hiperpolarización de estas neuronas DAérgicas lo que inhibiría o reduciría la liberación de DA en el NAcc, y por lo tanto, atenuaría la señal discriminativa inducida por la ANF. Esta sugerencia se ve apoyada por experimentos que reportan que microinyecciones de Baclofen en el ATV disminuye los niveles de DA en el NAcc (Yoshida et al., 1994).

Los resultados de las investigaciones con agonistas GABA_B, como el Baclofen, alentaron la utilización de este compuesto en humanos consumidores de cocaína, alcohol y nicotina (ver revisión de Brebner et al., 2002). Sin embargo, la administración de Baclofen en animales de laboratorio induce relajación muscular, hipotermia y efectos sedativos, lo que limitaría su utilización en terapias contra el abuso de drogas (Jacobson y Cryan, 2005).

En resumen, los resultados del presente experimento demostraron que la administración de Baclofen anuló la señal discriminativa de la ANF. Además, este efecto fue revertido por la administración previa del 2-hidroxisaclofen. Esto

proporciona evidencia adicional del papel de la neurotransmisión del GABA, particularmente, el de los receptores GABA_B, en regular los efectos conductuales de los psicoestimulantes relacionados con la adicción. Sin embargo, es necesario explorar ahora el papel que juegan los moduladores alostéricos de los receptores GABA_B en la señal discriminativa de la ANF, ya que estos moduladores carecen de efectos colaterales como el Baclofen y, probablemente, la mezcla de agonistas GABA_B con moduladores alostéricos resulte en una alternativa para las terapias farmacológicas contra las adicciones de los psicoestimulantes.

REFERENCIAS

Adell A. y Artigas F. (2004). The Somatodendritic release of dopamine in the ventral tegmental area and its regulation by afferent transmitter systems. ***Neuro Biobehav Rev***; **28 (4)**: 415-431.

Arnold JM and Roberts DCS (1997). A critique of fixed and progressive ratio schedules used to examine the neural substrates of drug reinforcement. ***Pharmacol Biochem Behav***; **57**: 441– 7.

Bettler B, Kaupmann K, Mosbacher J and Gassmann M. (2004). Molecular structure and physiological functions of GABA(B) receptors. ***Physiol Rev***; **84**: 835–867.

Borman J (2000). The “ABC” of GABA receptors. ***T Pharmacol Sci***; **21**: 1619.

Bowery NG, Bettler B, Froestl W, Gallagher JP, Marshall F, Raiteri M, Bonner TI and Enna SJ (2002) International Union of Pharmacology: XXXIII. Mammalian gamma-aminobutyric acid(B) receptors: structure and function. ***Pharmacol Rev***; **54**: 247–264.

Brebner K, Ahn S and Phillips AG (2005). Attenuation of d-amphetamine self-administration by Baclofen in the rat: behavioral and neurochemical correlates. ***Psychopharmacology***; **177**: 409–417

Brebner K, Childress AR and Roberts DCS (2002). A potential role for GABAB agonists in the treatment of psychostimulant addiction. ***Alcohol Alcohol***; **37**:478–484

Brebner K, Froestl W, Andrews M, Phelan R and Roberts DCS (1999). The GABA(B) agonist CGP 44532 decreases cocaine self-administration in rats:

demonstration using a progressive ratio and a discrete trials procedure. ***Neuropharmacology***; **38**:1797– 804.

Brebner K, Froestl W and Roberts DC (2002). The GABA(B) antagonist CGP56433A attenuates the effect of Baclofen on cocaine but not heroin self-administration in the rat. ***Psychopharmacology (Berl)***; **160**: 49–55.

Brebner K, Phelan R and Roberts DC (2000). Effect of Baclofen on cocaine self-administration in rats reinforced under fixed-ratio 1 and progressive-ratio schedules ***Psychopharmacology***; **148**:314–321

Callahan PM and Cunningham K (1995). Modulation of the discriminative stimulus properties of cocaine by 5-HT1B and 5-HT2C receptors. ***J Pharmacol Exp Ther***; **274**: 1414-1424.

Camí J and Farré M (2003). Drug addiction. ***N Engl J Med***; **349**: 975-986.

Chebib M and Johnston GA (1999). The “ABC” GABA receptors: a brief review. ***Clin Exp Pharmacol Physiol***; **26**: 937-940.

Chiamulera C, Epping-Jordan MP, Zocchi A, Marcon C, Cottiny C, Tacconi S, Corsi M, Orzi F, Conquet F (2001). Reinforcing and locomotor stimulant effects of cocaine are absent in mGluR5 null mutant mice. ***Nat Neurosci***; **4**: 873–874.

Colombo G, Serra S, Brunetti G, Atzori G, Pani M, Vacca G, Addolorato G, Froestl W, Carai, MA and Gesaa GL (2002). The GABA(B) receptor agonists Baclofen and CGP 44532 prevent acquisition of alcohol drinking behaviour in alcohol-preferring rats. ***Alcohol Alcohol***; **37**: 499–503.

Colpaert, F (1997). Drug discrimination in neurobiology. ***Pharmacol Biochem Behav***; **64**: 337-345.

Cousins MS, Roberts DCS, de Wit H (2002) GABA(B) receptor agonists for the treatment of drug addiction: a review of recent findings. *Drug Alcohol Depend*; **65**: 209–220

DeFeudis FV (1977). GABA receptors in the vertebrate nervous system. *Prog Neurobiol*; **9**: 123–45.

De la Garza R, Callahan PM and Cunningham K (1998). The discriminative stimulus properties of cocaine: effects of microinfusion of cocaine, a 5-HT_{1A} agonist or antagonist, into the ventral tegmental area. *Psychopharmacology*; **137**: 1-6.

Di Chiara G (1999). Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. *Eur J Pharmacol*; **375**: 13-30.

Di Ciano P and Everitt BJ (2003). The GABA(B) receptor agonist Baclofen attenuates cocaine- and heroin-seeking behavior by rats. *Neuropsychopharmacology*; **28**: 510–518.

Di Mateo V, De Blasi A, Di Giulio C and Esposito E (2001). Role of 5-HT_{2C} receptors in the control of central dopamine function. *T Pharmacol Sci*; **5**: 229-232.

ENA (2002). **Tabaco, alcohol y otras drogas**. México: Consejo Nacional Contra las Adicciones.

Everitt BJ, Parkinson JA, Olmstead MC, Arroyo M, Robledo P and Robbins TW (1999). Associative processes in addiction and reward. The role of amygdala-ventral striatal subsystems. *Ann NY Acad Sci*; **877**: 412-438.

Fattore L, Cossu G, Martellotta MC and Fratta W (2002). Baclofen antagonizes intravenous self-administration of nicotine in mice and rats. *Alcohol Alcohol*; **37**:495–498.

Filip M and Cunningham K (2002). Serotonin 5-HT_{2C} receptors in nucleus accumbens regulate expression of the hyperlocomotive and discriminative stimulus effects of cocaine. *Pharmacol Biochem Behav*; **7**: 745-756.

Giros B, Jaber M, Jone SR, Wightman RM and Caron MG (1996). Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature*; **379**: 606-612.

Glennon RA, Jarbe TU, Frankenheim J eds (1991) **Drug Discrimination: Applications to Drug Abuse Research, Vol 116**. National Institute on Drug Abuse Research Monograph Series. National Institute of Health, Bethesda.

Gorelick DA, Gardner EL and Xi Z (2004). Agents in development for the management of cocaine abuse. *Drug*; **64**: 1547-1573.

Groves PM, Rebec GV (1976). Biochemistry and behavior: some central actions of amphetamine and antipsychotic drugs. *Ann Rev Psychology*; **129**: 91-127.

Hotenspieler G, Wolf ME (2003). Baclofen attenuates conditioned locomotion to cues associated with cocaine administration and stabilizes extracellular glutamate levels in the rat nucleus accumbens. *Neuroscience*; **118**: 123–134.

Hoyer D, Hannon JP and Martin GR (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav*; **71**: 533-554.

Hursh SR and Winger G (1995). Normalized demand for drugs and other reinforcers. *J Exper Anal Behav*; **64**: 373-384.

Hyman SE (1996). Addiction to cocaine and amphetamine. **Neuron**; **16**: 901-904.

Jacobson LH and Cryan JF (2005). Differential sensitivity to the motor and hypothermic effects of the GABAB receptor agonist Baclofen in various mouse strains. **Psychopharmacology (Berl)**; **179(3)**: 688-699.

Jaeger, T. V. and Mucha, R. F. (1990). A taste aversion model of drug discrimination learning: Training drug and condition influence rate of learning. **Psychopharmacology**; **100**: 145-150.

Johnson SW, North RA (1992). Two types of neurone in the rat ventral tegmental area and their synaptic inputs. **J Physiol (Lond)**; **450**:455-468.

Kalivas P (1993) Neurotransmitter regulation of dopamine neurons in the ventral tegmental area. **Brain Res Rev**; **18**: 75-113.

Kalivas P (2000). A role for glutamate transmission in addiction to psychostimulants. **Addiction Biol.** **5**: 325-239.

Kalivas PW (2004). Glutamate systems in cocaine addiction. **Curr Opinion Pharmacol**; **4**: 23-29.

Kenny PJ and Markou A (2004). The ups and downs of addiction: role of metabotropic glutamate receptors. **T Pharmacol Sci**; **25**: 265-272.

Klitenick MA, DeWitte P, Kalivas PW (1992). Regulation of somatodendritic dopamine release in the ventral tegmental area by opioids and GABA: an in vivo microdialysis study. **J Neurosci**; **12**:2623–2632

Koe BK. (1976) Molecular geometry of inhibitors of the uptake of catecholamines and serotonin in synaptosomal preparations of rat brain. **J Pharmacol Exp Ther**; **199**: 649-661.

Koob GF (1992). Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. **T Pharmacol Sci**; **13**: 177-131.

Koob GF and Le Moal M (1997). Drug abuse: Hedonic homeostatic dysregulation. **Science**; **278**: 52-58.

Koob GF, Sanna PP. and Bloom FE. (1998) Neuroscience of addiction. **Neuron**; **21**: 467-476.

Lee B, Platt DM, Rowlett, JK, Adewale AS and Spealman RD (2005). Attenuation of behavioural effects of cocaine by the metabotropic glutamate receptor 5 antagonist 6-methyl-2-(phenylethynyl)pyridine in squirrel monkeys: comparison with dizocilpine. **J Pharmacol Exp Ther**; **312**: 1232-1240.

Lucki, I. (1988). Rapid discrimination of the stimulus properties of 5-hydroxytryptamine agonist using conditioned taste aversion. **J Pharmacol Exp Ther**; **247(3)**: 1120-1127.

Martin, G. M., Gans, M. and Van Der Kooy, D. (1990). Discriminative properties of morphine that modulate associations between taste and lithium chloride. **J Exper Anal Behav Proc**; **16**: 56-68.

Mastropaolo, J. P., Moskowitz, K. H., Dacanay, R. J. and Riley, A. L. (1989). Conditioned taste aversions as a behavioral baseline for drug discrimination learning: An assessment with phencyclidine. **Pharmacol Biochem Behav**; **32(1)**: 1-8.

McGeehan AJ, Janak M and Olive F (2004). Effect of the mGluR5 antagonist 6-methyl-2-(phenylethynyl)pyridine (MPEP) on the acute locomotor stimulant properties of cocaine.D-amphetamine and the dopamine reuptake inhibitor GBR12909 in mice. ***Psychopharmacology***; **174**: 266-273.

Meisch RA and Carroll ME (1981). Establishment of orally delivered drugs as reinforcers for rhesus monkeys: some relations to human drug dependence. En Travis Thompson and Chris E. Johanson (Eds). ***Behav Pharmacol Hum Drug Depen NIDA Research Monograph***; **37**. USA.

Miranda F, Cedillo L, Sandoval A, Hernández JC, Sánchez H y Velázquez-Martínez DN (2006). El antagonista mglur5 mpep reduce las propiedades discriminativas de la anfetamina. ***Rev Mex Neuroci***; **7(3)**: 206-211.

Miranda F, Hermosillo A, Sánchez H y Velázquez-Martínez D N (2005). Mecanismos no dopaminérgicos en las propiedades discriminativas de la anfetamina: efectos de agonistas serotoninérgicos. ***Rev Mex Psicol***; **22(2)**: 553-559.

Miranda F, Hong E and Velázquez-Martínez DN (2001). Discriminative stimulus properties of indorenate in a conditioned taste aversion (CTA) paradigm. ***Pharmacol Biochem Behav***; **68**: 427-433.

Miranda F and Velázquez-Martínez D (1997). Discriminative stimulus properties of amphetamine in a conditioned taste aversion paradigm. ***Behav Pharmacol***; **8**: 458-464.

Office on Drugs and Crime (2007). ***World Drug Report***. United Nations.

Paterson NE, Froestl W and Markou A (2004). The GABAB receptor agonists Baclofen and CGP44532 decreased nicotine self-administration in the rat. ***Psychopharmacology (Berl)***; **172**: 179–186.

Revusky, S., Coombes, S. y Pohl, R. W. (1982). Drug states as discriminative stimuli in a flavor-aversion learning experiment. ***Journal of Comparative and Physiological Psychology***; **96**: 200-211.

Riddle E.L., Fleckenstein A.E. y Hanson G.R. (2005). Role of monoamine transporters in mediating psychoestimulant effects. ***The AAPS journal***; **7 (4)**: 847-851.

Riley, A. L., Jeffreys, R. D., Pournaghash, S., Titley, T. L. y Kufera, A. M. (1989). Conditioned taste aversion as a behavioral baseline for drug discrimination learning: Assessment with the dipsogenic compound pentobarbital. ***Drug Development Research***; **16**: 229-236.

Roberts DCS and Andrews MM (1997). Baclofen suppression of cocaine self-administration: demonstration using a discrete trials procedure. ***Psychopharmacology***; **131**: 271–277.

Roberts DCS, Andrews MM and Vickers GJ (1996) Baclofen attenuates the reinforcing effects of cocaine in rats. ***Neuropsychopharmacolog***; **15**: 417–423.

Roberts DCS and Brebner K (2000) GABA modulation of cocaine selfadministration. ***Ann N Y Acad Sci***; **909**:145–158

Rothman RB and Baumann MH (2003). Monoamine transporters and psychostimulant drugs. ***Eur J Pharmacol***; **479**: 23-40.

Rothman RB and Glowa JR (1995). A review of the effects of dopaminergic agents on human, animals and drug-seeking behavior, and its implication for medication development. ***Mol Neurobiol***; **11**: 1-19.

Tessari M, Pilla M, Andreoli M, Hutcheson DN and Heidbreder CA (2004). Antagonism at metabotropic glutamate 5 receptors inhibits nicotine- and cocaine-taking behaviours and prevents nicotine-triggered relapse to nicotine-seeking. ***Eur J Pharmacol***; **499**: 121-133.

Tzschentke TM and Schmidt WJ (2003). Glutamatergic mechanisms in addiction. ***Mol Psychiatry***; **8(4)**: 373-382.

Tzschentke TM (2001). Pharmacology and behavioural pharmacology of mesocortical dopamine system. ***Prog Neurobiol***; **63**: 241-320.

Uzbay IT, Wallis CJ, Lal H and Forster MJ (2000). Effects of NMDA receptor blockers on cocaine-stimulated locomotor activity in mice. ***Behav Brain Res***; **108**: 57-61.

Velázquez-Martínez D, Cabrera R, Sánchez H and Miranda F (2004). **Role of 5-HT1B/2C receptors on the discriminative stimulus properties of amphetamine.** *8th Multidisciplinary International Conference of Biological Psychiatry*. San Petersburgo, Rusia. Mayo del 2004 Organizada por Russian Society For Biopsychiatry.

Westerink BHC, Kwint HF and deVries JB (1996). The pharmacology of mesolimbic dopamine neurons: a dual-probe microdialysis study in the ventral tegmental area and nucleus accumbens of the rat brain. ***J Neurosci***; **16(8)**: 2605-2611.

Wirtshafter D and Sheppard AC (2001). Localization of GABAB receptors in midbrain monoamine containing neurons in the rat. ***Brain Res Bull***; **56**: 1-5.

Wise RA (1996). Neurobiology of addiction. ***Curr Opin Neurobiol***; **6**: 243-251.

Xi ZX and Stein EA (1999). Baclofen inhibits heroin self-administration behavior and mesolimbic dopamine release. *J Pharmacol Exp Ther*; **290**: 1369–1374.

Yoshida M, Yokoo H, Tanaka T, Emoto H and Tanaka M (1994) Opposite changes in the mesolimbic dopamine metabolism in the nerve terminal and cell body sites induced by locally infused Baclofen in the rat. *Brain Res*; **636**:111-114.