



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN PSICOLOGÍA  
NEUROCIENCIAS DE LA CONDUCTA

EVALUACIÓN DEL PAPEL DE LOS RECEPTORES 5-HT<sub>1A</sub> EN LA SEÑAL  
DISCRIMINATIVA DE LA ANFETAMINA

**T E S I S**  
QUE PARA OPTAR EL GRADO DE

**DOCTORA EN PSICOLOGÍA**

**P R E S E N T A**

**ALMA ROSA SANDOVAL SÁNCHEZ**

TUTOR PRINCIPAL

DR. FLORENCIO MIRANDA HERRERA  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

DR. J.C. PEDRO ARRIAGA RAMÍREZ  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

DR. DAVID NATHANAEL VELÁZQUEZ MARTÍNEZ  
FACULTAD DE PSICOLOGÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DR. BENJAMÍN FLORAN GARDUÑO  
CINVESTAV ZACATENCO, DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA, BIOFÍSICA Y NEUROCIENCIAS

DR. MARIO A. RODRÍGUEZ CAMACHO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, Mayo 2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

*“Lo que sabemos es una gota de agua; lo que ignoramos es el océano”.*  
Isaac Newton

## *Agradecimientos*

### *A Dios*

*Por permitirme ver la luz de un nuevo día, por la vida misma, por estar conmigo en todo momento y llenarme de tantas bendiciones.*

### *A mis padres*

*Bernardina Sánchez Olguín y Rodolfo Sandoval Carrillo, ustedes son mi fuente de inspiración, nunca alcanzarán las palabras para expresarles mi orgullo y agradecimiento. Gracias por tanto amor, por su comprensión y apoyo incondicionales, por enseñarme a creer en Dios, por ser los primeros en alentarme para luchar por mis sueños, porque hasta hoy entiendo la complejidad de ser padres y para mí ustedes simplemente son los mejores. Los amo.*

### *A mi esposo*

*Rafa, gracias por tu apoyo y comprensión, por ser mi compañero en esta aventura llamada vida, por tus palabras de aliento y motivarme a ser mejor cada día en todos los sentidos, por creer en mí, por amarme de todas las formas en las que se puede amar a una persona. Te amo.*

### *A mi hijo*

*Te amo desde antes de que nacieras y te amaré toda la vida, eres la luz que ilumina mi vida, mi motorcito que me impulsa a ser mejor, gracias hijo por tus abrazos amorosos, por tus sonrisas, por tus miradas llenas de amor puro y sincero. Espero nunca defraudarte y que un día te sientas muy orgulloso de tu mami.*

### *A mis hermanas y hermano*

*Viry, Brenda y Rodolfo, gracias por apoyarme, por ser mis confidentes, por las pláticas, por las risas, por sus consejos, por amarme, por todos los momentos que compartimos juntos, porque además de ser mis hermanos son mis mejores amigos y siempre los llevo en mi corazón.*

## *A la familia Quíroz Mota*

Gracias por el apoyo que me han brindado, pero sobre todo gracias por permitirme ser parte de su familia.

### *Dr. Florencio*

Mil gracias, por sus enseñanzas, su comprensión y paciencia, por enseñarme el valor de la disciplina y la constancia, pero sobre todo por brindarme su amistad. Es cierto que no ha sido nada fácil la realización de este proyecto, sin embargo, siempre me ha orientado con sus atinadas observaciones y con gran disposición.

### *Dr. Benjamín Floran*

Gracias por todas las aportaciones que realizó a esta tesis, en especial quiero agradecerle por adoptarme en su laboratorio, donde adquirí aprendizajes invaluable, quiero agradecerle también a todo su equipo; a Paco quien siempre estaba al pendiente del material y equipo necesario para realizar los experimentos, a Jose Luis que me enseñó hacer rebanadas, a Arturo Sierra que me enseñó hacer cirugía, al Dr. Erick Escatín que me enseñó todo lo relacionado con la microdiálisis y HPLC, a Itzel por su apoyo con los experimentos de microdiálisis, a Marina y Santiago por ser mis compañeros durante la realización de las cirugías y brindarme su amistad.

### *Dr. Pedro Arriaga, Dr. David N. Velázquez y Dr. Mario Rodríguez*

Gracias por sus aportaciones, por sus críticas constructivas, por el tiempo que dedicaron a esta tesis aún y cuando tenían múltiples actividades y compromisos, gracias por sus sabios consejos, su experiencia, por su calidez, profesionalismo y por enriquecer con sus conocimientos este proyecto.

### *Laura, Paty, Isela, Jackie y Juan Carlos*

Son un gran equipo, gracias por brindarme su amistad por todo su apoyo, por alentarme a ser una mejor persona y profesionalista, por compartir conmigo tantas experiencias y momentos gratos. Son una parte muy importante en mi vida, los quiero mucho.

## ÍNDICE

ABREVIATURAS	06
RESUMEN	08
ABSTRACT	09
ADICCIÓN A LAS DROGAS PSICOESTIMULANTES	10
EL SISTEMA DE LA RECOMPENSA DEL CEREBRO Y SU IMPORTANCIA EN LA ADICCIÓN	14
El sistema dopaminérgico	18
○ Receptores a DA	18
○ Distribución de las vías dopaminérgicas	19
○ Incremento de DA en el sistema de la recompensa por drogas de abuso	20
EL SISTEMA SEROTONINÉRGICO Y SU RELACIÓN CON LA ADICCIÓN A LAS DROGAS DE ABUSO	23
Síntesis y metabolismo de la serotonina	25
Clasificación de receptores serotoninérgicos	27
Receptores 5-HT <sub>1A</sub>	29
○ Localización de los receptores 5-HT <sub>1A</sub>	29
-Receptores presinápticos 5-HT <sub>1A</sub>	30
-Receptores postsinápticos 5-HT <sub>1A</sub>	31
○ Estructura molecular	31
○ Transducción de señales de los receptores 5-HT <sub>1A</sub>	33
○ Farmacología	36

LOS RECEPTORES 5-HT <sub>1A</sub> COMO BLANCO FARMACOLÓGICO EN LA MODULACIÓN DE LOS EFECTOS CONDUCTUALES DE LAS DROGAS PSICOESTIMULANTES	37
Evidencia experimental del papel de los receptores 5-HT <sub>1A</sub> en la expresión de los efectos conductuales en la adicción a las drogas de abuso	37
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	42
Hipótesis	43
Objetivo General	44
Objetivos Específicos	44
METODOLOGÍA GENERAL	45
Método Conductual: Discriminación de Drogas	45
Método Bioquímico: Microdiálisis cerebral con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	49
EXPERIMENTO 1	
Evaluación de la administración de dosis bajas y altas del agonista a receptores 5-HT <sub>1A</sub> , 8-OH-DPAT y del antagonista WAY100135 en la señal discriminativa de la anfetamina	55
EXPERIMENTO 2	
Determinación de las concentraciones de DA en el Shell (caparazón o cubierta) del Nacc, posterior a la administración del agonista 5-HT <sub>1A</sub> , 8-OH-DPAT	66

### EXPERIMENTO 3

Determinación de las concentraciones de GABA en el ATV, posterior a la administración del agonista 5-HT <sub>1A</sub> , 8-OH-DPAT	72
---	----

### EXPERIMENTO 4

Evaluación de la activación de los receptores 5-HT <sub>1A</sub> y el bloqueo de los receptores GABA <sub>A</sub> en la señal discriminativa de la ANF	79
--	----

Discusión General	89
-------------------	----

Conclusiones	97
--------------	----

Referencias	98
-------------	----

## ABREVIATURAS

**2βME.** 2-β-mercaptol-etanol.

**5-CT.** 5-carboxamdotriptamina

**5-HT.** 5-hidroxitriptamina, Serotonina

**8-OH-DPAT.** 8-hidroxi-2-(di-n-propilamina)tetralin

**ANF.** Anfetamina

**ARN.** Ácido Ribonucleico

**ATV.** Área Tegmental Ventral

**CaCl.** Cloruro de Calcio

**CAS.** Condicionamiento de Aversión a los Sabores

**CPF.** Corteza Prefrontal

**DA.** Dopamina

**DAT.** Transportador de Recaptura de Dopamina

**DE50.** Dosis Efectiva 50

**EDTA.** Ácido Etilendiaminotetraacético

**GABA.** Ácido γ-aminobutírico

**GTP.** Guanosin Trifosfato

**HC.** Hipocampo

**HL.** Hipotálamo Lateral

**I.m.** Intramuscular

**I.p.** Intraperitoneal

**KDa.** Kilodalton

**Ki.** Constante de ionización

**LiCl.** Cloruro de Litio

**MeOH.** Metanol

**MgSO<sub>4</sub>.** Sulfato de Magnesio

**nM.** Nanomolar

**Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.** Bifosfato de Sodio

**NAcc.** Núcleo Accumbens

**NaCl.** Cloruro de Sodio



**NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.** Monofosfato de Sodio

**NaOH.** Hidróxido de Sodio

**NE.** Norepinefrina

**OPA.** O-oftaldialdehído

**OSA.** Sal Sódica del Ácido 1-octanodulfónico

**PET.** Tomografía por emisión de positrones

**PKC.** Proteína cinasa C

**SNC.** Sistema Nervioso Central

**TDM.** Tálamo Dorso Medial

## RESUMEN

Existe evidencia de que la 5-hidroxitriptamina, la serotonina (5-HT) puede regular algunos efectos conductuales de los psicoestimulantes. Se ha sugerido que los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> somatodendríticos, entre otros, están involucrados en dicha modulación. Diversos estudios han reportado que las dosis bajas del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, estimulan preferentemente a los autorreceptores somatodendríticos 5-HT<sub>1A</sub> reduciendo la actividad locomotora inducida por cocaína. Sin embargo, también se ha informado que dosis relativamente altas de 8-OH-DPAT no sustituyen ni alteran la señal discriminativa de la cocaína o la anfetamina (ANF). La presente tesis doctoral tuvo por objeto evaluar los efectos de dosis bajas y altas del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT, en las propiedades de estímulo discriminativo de la ANF utilizando el condicionamiento de aversión al sabor (CAS) como procedimiento de discriminación de drogas. Además, con el objetivo de establecer una correlación entre los efectos conductuales de la discriminación de drogas y los cambios en las concentraciones de DA y GABA se evaluó el efecto de la administración sistémica de una dosis baja o alta del agonista 8-OH-DPAT y del antagonista WAY100135 sobre las concentraciones extracelulares de DA en el núcleo accumbens (NAcc) y de GABA en el área tegmental ventral (ATV), utilizando la microdiálisis cerebral. Los resultados conductuales mostraron que las dosis bajas, pero no las altas de 8-OH-DPAT produjeron una reducción en la señal discriminativa de la ANF mientras que la administración del antagonista WAY100135 previno dichos efectos. Los resultados con microdiálisis demostraron que una dosis baja de 8-OH-DPAT disminuyó las concentraciones extracelulares de DA en el NAcc y aumentó las concentraciones de GABA en el ATV, estos efectos fueron prevenidos por el pretratamiento con el WAY100135. Dichos efectos podrían prevenirse si se bloquean los receptores GABA<sub>A</sub> localizados en el soma de las neuronas dopaminérgicas del ATV. En un experimento realizado en esta tesis se demostró que la administración del antagonista a receptores GABA<sub>A</sub> bicuculina previo a la administración del agonista 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT más una dosis fija de ANF, prevenía el efecto del 8-OH-DPAT sobre la señal discriminativa de la ANF. Estos datos apoyan la hipótesis de que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> modulan los efectos conductuales de algunas drogas de abuso como la ANF, además aportan evidencia que sugiere que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> pueden ser un objetivo importante para el desarrollo de tratamientos farmacológicos para el tratamiento de la adicción a drogas de abuso.

*Palabras clave:* Adicciones, Anfetamina, Discriminación de drogas, Dopamina, Receptores 5-HT<sub>1A</sub>.

## ABSTRACT

There is evidence that 5-hydroxytryptamine; serotonin (5-HT) may regulate some behavioral effects of psychostimulants. It has been suggested that among others somatodendritic 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors are involved in such modulation. Several studies have reported that low doses of the agonist at 5-HT<sub>1A</sub> receptors, 8-OH-DPAT preferentially stimulate 5-HT<sub>1A</sub> somatodendritic autoreceptors by reducing cocaine-induced locomotor activity. However, it has also been reported that relatively high doses of 8-OH-DPAT do not replace or alter the discriminative cocaine or amphetamine (AMPH) signal. The aim of the present thesis was to evaluate the effects of low and high doses of 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist 8-OH-DPAT, in the discriminative stimulus properties of AMPH using taste aversion conditioning (TAC) as a discrimination procedure of drugs. In addition, in order to establish a correlation between the behavioral effects of drug discrimination and changes in DA and GABA concentrations, was tested the effect of the systemic administration of a low or high doses of the 8-OH-DPAT agonist and of WAY100135 antagonist on the extracellular DA concentrations in the nucleus accumbens (NAcc) and GABA in the ventral tegmental area (VTA), using cerebral microdialysis as a technique. Behavioral results showed that low but not high doses of 8-OH-DPAT produced a reduction in the discriminative signal of AMPH while administration of the WAY100135 antagonist prevented such effects. The results derived from the microdialysis studies showed that a low dose of 8-OH-DPAT decreased the extracellular DA concentrations in the NAcc and increased the concentrations of GABA in the VTA, these effects were prevented by the pretreatment with WAY100135. Such effects could be prevented by blocking GABA<sub>A</sub> receptors located in the soma of the VTA dopaminergic neurons; in an experiment performed in this thesis it was demonstrated that the administration of the GABA<sub>A</sub> receptor agonist, bicuculline predicted the administration of the 5-HT<sub>1A</sub> agonist, 8-OH-DPAT plus a fixed dose of AMPH prevented the effect of 8-OH-DPAT on the discriminative signal of AMPH. These data support the hypothesis that 5-HT<sub>1A</sub> receptors modulate the behavioral effects of some drugs of abuse such as AMPH, in addition to providing evidence suggesting that 5-HT<sub>1A</sub> receptors may be an important goal for the development of pharmacological treatments the treatment of addiction to drugs of abuse.

Key Words: Addictions, Amphetamine, Drug Discrimination, Dopamine, 5-HT<sub>1A</sub> Receptors.

## **ADICCIÓN A LAS DROGAS PSICOESTIMULANTES**

Las drogas son consideradas como poderosos componentes químicos capaces de afectar la percepción y el comportamiento. La adicción a las drogas conocida también como farmacodependencia es un trastorno recurrente y crónico que básicamente se caracteriza por tres elementos. En primer lugar se presentan conductas compulsivas en la búsqueda y consumo de drogas, en segundo lugar hay pérdida del control en el consumo de drogas y finalmente, cuando no se tiene acceso a la droga, emerge un estado emocional negativo que incluye ansiedad, irritabilidad, malestar físico, etcétera. Este trastorno es resultado del uso repetido de una droga en un determinado periodo de tiempo, que causa cambios en el cerebro del usuario (Koob & Le Moal, 2006; Koob & Volkow, 2016; Organización Mundial de la Salud, 2005).

Actualmente, el consumo de drogas representa un grave problema de salud pública tanto a nivel nacional como internacional. A nivel mundial, de acuerdo con la Oficina de las Naciones Unidas Contra la Droga y el Delito (Office on Drugs and Crime, 2016), se calcula que 1 de cada 20 adultos, es decir, alrededor de 250 millones de personas de entre 15 y 64 años, consumieron por lo menos una droga en 2014, de las cuales 29 millones padecen trastornos relacionados con las drogas y sólo 1 de cada 6 personas recibe tratamiento. Además, se calcula que el número de muertes relacionadas con el consumo de drogas es de 43.5 muertes por millón de personas de entre 15 y 64 años. En nuestro país, de acuerdo al Consejo Nacional Contra las Adicciones (CONADIC, 2016) se reporta un aumento del 1% en el consumo de drogas ilegales y médicas en personas de entre 12 y 65 años; asimismo, algunos datos sobresalientes son la reducción en la edad de inicio del consumo de la droga, el incremento en los grupos estudiantiles y su aumento significativo en habitantes de zonas rurales y mujeres. De acuerdo con la Encuesta Nacional de Adicciones realizada en el 2011 (CONADIC, 2011) en la población de 12 a 65 años, los resultados respecto al consumo de cualquier droga en el último año fueron: la prevalencia pasó del 1.6% al 1.8% y el consumo de

drogas ilegales fue de 1.5% muy similar al encontrado en 2008. Se encontró que las drogas ilegales de mayor consumo en la población mexicana son en primer lugar la marihuana con una prevalencia del 1.2% seguida por la cocaína con un 0.5%. La edad promedio de inicio de consumo de drogas en la población mexicana es en promedio a los 18.8 años. Asimismo en el 2008, la Encuesta Nacional de Adicciones reportó que el 5.7% de la población, había consumido por lo menos una vez en su vida algún tipo de droga.

Con base en estas cifras, una meta prioritaria de la investigación es dilucidar los mecanismos neurobiológicos que subyacen a las drogas adictivas, para combatir la adicción a las drogas. Si bien es cierto que existen muchos factores relacionados con el consumo y abuso de las drogas adictivas, una vez establecido el consumo, el principal mecanismo involucrado es el neurobiológico. En este sentido, se sabe que la mayoría de las drogas de abuso, de diferentes clases, con diferentes blancos moleculares en diferentes sitios neuroanatómicos, tienen como resultado el aumento de la neurotransmisión de dopamina (DA) en el sistema de la recompensa o gratificación del cerebro que, en sus componentes más básicos incluye el sistema mesolímbico que se inicia en el área tegmental ventral (ATV) y tiene proyecciones hacia el núcleo accumbens (NAcc), este es un *locus* importante en la producción de los efectos reforzantes, gratificantes, discriminativos y locomotores de las drogas psicoestimulantes como la ANF y cocaína (Koob, Sanna & Bloom, 1998; Wise, 2002).

La cocaína y la ANF son agonistas monoaminérgicos indirectos que tienen afinidad por los transportadores de DA, norepinefrina (NE) y serotonina (5-HT) involucrados en los sistemas de recaptura y almacenamiento vesicular (Rothman & Baumann, 2003). La cocaína actúa mediante el bloqueo del transportador de recaptura de la DA, NE y 5-HT; por lo tanto, aumenta los niveles sinápticos de esos neurotransmisores. La ANF entra en las terminales presinápticas y, una vez dentro, bloquea la recaptura de DA, NE y 5-HT en las vesículas sinápticas, promoviendo un aumento en las concentraciones citoplasmáticas de esas

monoaminas. Posteriormente, en la medida que los niveles citoplasmáticos de esas monoaminas se incrementan, las monoaminas salen de la neurona mediante la inversión de la función de los transportadores de recaptura de monoaminas, produciendo un aumento en los niveles sinápticos de DA, NE y 5-HT (Amara & Sonders, 1998; Elliot & Beveridge, 2005; Kahlig & Gali, 2003; Koe, 1976; Rothman & Baumann, 2003). A pesar de esta evidencia, los compuestos dopaminérgicos no han funcionado como base para el desarrollo de intervenciones terapéuticas exitosas para combatir la dependencia a los psicoestimulantes, ya que los antagonistas clásicos como el haloperidol han tenido como efecto secundario conductas parecidas al Parkinson (Childress & O'Brien, 2000).

Una alternativa para atenuar o eliminar los efectos reforzantes y adictivos de estos compuestos, podría implicar la manipulación de aferentes no dopaminérgicos que modulen la función mesolímbica de la DA. Uno de los candidatos ha sido el sistema de la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT). Sin embargo, esta modulación es compleja y dependiente del subtipo de receptor serotoninérgico involucrado. Algunos estudios indican que los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub> y 5-HT<sub>3</sub> tienen la capacidad de modular la función mesolímbica de la DA (Hoyer, Hannon & Martin, 2002). En la presente tesis nos centramos en la participación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y su relación con conductas relacionadas con la adicción debido a que en estudios iniciales donde se evaluó el papel de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en dichas conductas (Callahan & Cunningham, 1995), fallaron en sustituir o alterar la señal discriminativa de la ANF, probablemente por las dosis empleadas. Actualmente, se sabe que las dosis bajas de agonistas selectivos a receptores 5-HT<sub>1A</sub> activan preferentemente a los autorreceptores somatodendríticos, mientras que las dosis altas activan a los receptores postsinápticos, produciendo efectos diferenciales en el comportamiento.

Por lo tanto, la presente tesis tuvo por objeto evaluar el papel de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en la señal discriminativa de la ANF, empleando dosis altas y bajas del agonista 8-OH-DPAT y utilizando el condicionamiento de aversión al

sabor (CAS), como procedimiento de discriminación de drogas. El presente trabajo está organizado de la siguiente manera: primero se describirá el sistema cerebral de la recompensa y su relación con las adicciones. En segundo lugar, se describe el sistema serotoninérgico, en particular, la estructura molecular, localización, farmacología y transducción de señales de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>. En tercer lugar, se presenta una revisión de la evidencia experimental de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> como blanco farmacológico en la modulación de las conductas relacionadas con las drogas de abuso. Después, se presenta la serie experimental que consta de cuatro experimentos realizados para evaluar la participación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en la señal discriminativa de la ANF. Se enuncian primero los objetivos y la metodología general empleada en el trabajo experimental. En el primer experimento se evaluaron dosis bajas y altas del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT y del antagonista WAY100135 en las propiedades discriminativas de la ANF; en el segundo, se evaluaron las concentraciones de DA en el *Shell* (caparazón o cubierta) del NAcc tras la administración sistémica de una dosis baja o alta del agonista 8-OH-DPAT; el tercer experimento, estuvo dirigido a evaluar el cambio en las concentraciones de GABA en el ATV después de la administración sistémica de una dosis baja o alta del agonista 8-OH-DPAT. En el último experimento, se evaluó adicionalmente la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y el bloqueo de los receptores GABA<sub>A</sub> en la señal discriminativa de la ANF. Finalmente, se analizan los resultados globales encontrados en esta serie experimental.

## **EL SISTEMA DE LA RECOMPENSA DEL CEREBRO Y SU IMPORTANCIA EN LA ADICCIÓN**

Para poder entender la adicción a las drogas, al menos desde un punto de vista neurobiológico, es importante conocer el sistema de la gratificación o recompensa del cerebro también llamado *circuito mesocorticolímbico o límbico-motor* por las estructuras que lo conforman. Este fue descubierto azarosamente por Olds y Milner (1954), quienes originalmente diseñaron un experimento para evaluar la relación entre la formación reticular, la motivación y el aprendizaje. Para llevarlo a cabo implantaron microelectrodos en el cerebro de una rata con la finalidad de estimularlo eléctricamente y determinar los rangos en que la estimulación eléctrica afectaba el aprendizaje. Sin embargo, colocaron el electrodo de estimulación varios milímetros delante de la posición que había sido planeada, probablemente cerca del área septal o anterior al hipotálamo. Usando este método, observaron que pasados los primeros cinco minutos considerados de aprendizaje, la rata estimulaba su cerebro regularmente y permanecía así largo rato. Cuando la corriente se apagaba, la rata insistía presionando una palanca cerca de siete minutos pasados los cuales se dormía. Este patrón podía ser observado cuantas veces se intentara, al encender la corriente, la rata comenzaba a autoestimularse regularmente, cuando se apagaba insistía un rato y después dormía.

Este descubrimiento permitió el progreso de la experimentación del fenómeno del reforzamiento y condujo a la búsqueda de los sistemas neurales implicados. Estudios posteriores exploraron distintas áreas cerebrales en las que podía obtenerse un efecto reforzante al aplicar un estímulo eléctrico, encontrando que existen numerosos sitios en los que podía obtenerse un efecto reforzante. Los sitios cuya estimulación resultó en un mayor número de respuestas fueron el área septal, la corteza cingulada y el tracto mamilotalámico. Se encontró que existen áreas en las que la estimulación posee características de castigo y zonas neutras



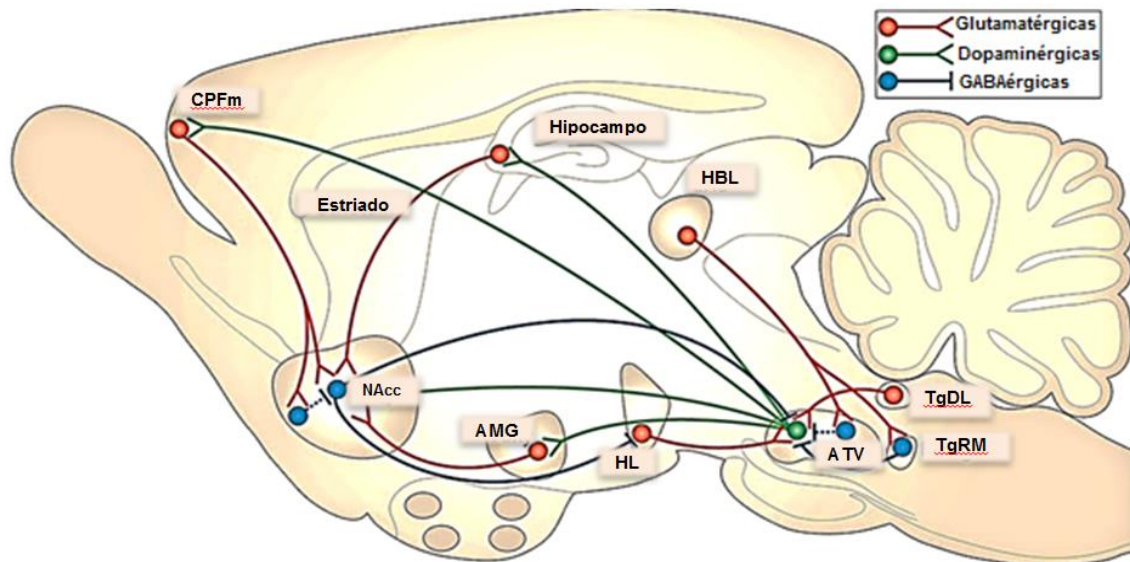
como el cuerpo calloso o el núcleo caudado, en las que las ratas no hacen nada por obtener o evitar la estimulación eléctrica (Best, 2006).

Se comprobó que la estimulación eléctrica intracraneal en animales puede ser reforzante al ser aplicada en distintas partes del encéfalo, como el bulbo olfatorio, la corteza prefrontal, el NAcc, los núcleos caudado y putamen, varios núcleos talámicos, la formación reticular, la amígdala, el ATV, la sustancia *nigra* y el *locus coeruleus* (Olds & Fobes, 1981). El área mejor caracterizada es el haz prosencefálico medial. Éste es un grupo complejo de fibras que surge desde las regiones basales olfatorias, la región periamigdaloides y los núcleos septales, atraviesa el hipotálamo lateral, lugar donde generalmente se implantan los electrodos de estimulación y contiene axones ascendentes dopaminérgicos, noradrenérgicos y serotoninérgicos. Como podemos ver, desde su descubrimiento hasta la actualidad, el sistema de la recompensa del cerebro ha resultado de gran interés.

Para fines de estudio y de acuerdo a las estructuras que lo conforman el sistema de la recompensa del cerebro se divide en dos: 1) *el sistema mesocorticolímbico* que comprende neuronas dopaminérgicas que surgen del ATV y proyectan hacia el NAcc (que es parte del estriado ventral y cuyas principales neuronas son las GABAérgicas espinosas medianas) y a la corteza frontal. 2) *el sistema mesolímbico* que surge del ATV hacia el NAcc. Las drogas de abuso afectan ambos sistemas debido a que las drogas modulan la transmisión dopaminérgica, produciendo un incremento de DA en el NAcc regulando de forma directa e indirecta la actividad del sistema de la recompensa cerebral. El NAcc tiene un papel bien definido en los efectos de los reforzadores naturales como el agua, la comida y el sexo, asimismo en los efectos reforzantes producidos por las drogas de abuso. Además, como forma parte del sistema límbico está relacionado con la motivación y el reforzamiento, el NAcc además de recibir conexiones dopaminérgicas que provienen del ATV, tiene influencia glutamatérgica proveniente de la corteza prefrontal (CPF), la amígdala (AMG) y el hipocampo

entre otras áreas (Figura 1). Debido a que en el NAcc se integran los *inputs* de la corteza y del sistema límbico es considerado un núcleo integrador ya que une motivación con acción (Pereira, 2008).

Todas las regiones del cerebro antes mencionadas se encuentran conectadas entre sí de manera compleja, por ejemplo, el NAcc recibe inervación glutamatérgica de la CPF (importante en aspectos relacionados con la memoria de trabajo y control ejecutivo), amígdala (esencial en la formación del temor asociativo y las memorias relacionadas con la recompensa) y el hipocampo (crucial para la memoria declarativa) y a su vez forman conexiones recíprocas entre sí. La salida funcional de cada una de estas regiones es modulada por varios tipos de interneuronas GABAérgicas y colinérgicas. Por otra parte, cada una de estas regiones recibe *inputs* de serotonina provenientes del *núcleo del rafé* e *inputs* de noradrenalina que provienen del *locus coeruleus* (Russo & Nestler, 2013; Vertes, 2006). Finalmente, se ha demostrado que las neuronas dopaminérgicas del ATV también liberan glutamato o GABA que puede contribuir o alterar los efectos funcionales (Hnasko, Hjelmstad, Fields & Edwards, 2012; Tritsch, Ding & Sabatini, 2012).



CPFm	Corteza Prefrontal medial	NAcc	Núcleo Accumbens
AMG	Amígdala	HL	Hipotálamo Lateral
HBL	Habénula Lateral	ATV	Área Tegmental Ventral
TgDL	Tegmentum Dorsolateral	TgRM	Tegmentum Rostromedial

*Figura 1.* Esquema del circuito de la recompensa que incluye proyecciones dopaminérgicas del ATV al NAcc que liberan DA en respuesta a los estímulos relacionados con la recompensa y en algunos casos con la aversión. Se muestran las conexiones dopaminérgicas (líneas continuas en color verde), glutamatérgicas (líneas continuas en color rojo) y GABAérgicas (líneas continuas en color azul) desde y hacia el ATV y NAcc (Modificado de Russo & Nestler, 2013).

Por lo tanto, el sistema de la recompensa del cerebro resulta altamente complejo e interconectado, sin embargo, diversos autores coinciden en proponer que el neurotransmisor más importante implicado en la conducta placentera o reforzante es la DA (Baldo, Jain, Varaldi, Koob & Markou, 1999; Duvauchelle, Fleming, & Kornetsky, 1998; Wise & Bozart, 1982). A pesar de que la DA no es la única molécula relacionada con la adicción, como se mencionó anteriormente, las neuronas dopaminérgicas tienen una función muy importante en el refuerzo principalmente en el NAcc (Carlson, 1993). Por esta razón resulta de suma importancia estudiar el sistema dopaminérgico.

## El sistema dopaminérgico

La DA es una catecolamina formada por un grupo catecol (un anillo de benceno con dos hidroxilos) y una cadena de feniletilamina y es el principal neurotransmisor catecolaminérgico en el SNC, donde participa en una gran variedad de funciones como la actividad motora, estados afectivos, la regulación endocrina así como la ingestión de agua y alimentos y es uno de los elementos principales en el trastorno adictivo (Bahena-Trujillo, Flores & Arias-Montaño, 2000).

- *Receptores a DA*

Actualmente, se han identificado cinco tipos de receptores dopaminérgicos, todos ellos acoplados a proteínas G y divididos en dos familias farmacológicas denominadas  $D_{1\text{-like}}$  y  $D_{2\text{-like}}$ . Evidentemente, la activación de una u otra familia producirá efectos diferentes. Los receptores de la familia  $D_1$  ( $D_1$  y  $D_5$ ) están acoplados a proteínas  $G_s$  y estimulan la formación de AMPc como principal mecanismo de transducción de señales. El incremento en la formación de AMPc, lleva a la activación de la proteína cinasa dependiente de AMPc (proteína cinasa A, PKA), y a la fosforilación de la DARPP-32. La activación de la PKA tiene como resultado la apertura de canales  $Ca^{2+}$ , lo que produce una despolarización, mientras que la fosforilación convierte a la DARPP-32 en un potente inhibidor de la proteína fosfatasa-1, involucrada en la modulación de la señalización de los receptores  $D_2$ . Los subtipos pertenecientes a la familia  $D_{2\text{-like}}$  ( $D_2$ ,  $D_3$  y  $D_4$ ) inhiben la formación de AMPc, activan canales de  $K^+$  y reducen la entrada de iones de  $Ca^{2+}$  a través de canales dependientes de voltaje, efectos mediados también por proteínas G ( $G_i$  y  $G_o$ ), por lo que la activación de los receptores  $D_{2\text{-like}}$  produce una hiperpolarización de la neurona. El estudio del sistema dopaminérgico del SNC ha generado gran interés, debido a que diversas alteraciones en la transmisión dopaminérgica han sido relacionadas, directa o indirectamente, con trastornos

severos como la enfermedad de Parkinson, la esquizofrenia y la adicción a drogas de abuso (Cooper, Bloom & Roth, 2003).

- *Distribución de las vías dopaminérgicas*

El sistema dopaminérgico ha sido estudiado mediante técnicas de fluorescencia e inmunohistoquímica, y los grupos neuronales se han clasificado desde A<sub>8</sub> hasta A<sub>17</sub> (Fuxe, 1965). Por sus proyecciones las neuronas dopaminérgicas se agrupan en tres sistemas. 1) sistemas ultracortos, formados por las células dopaminérgicas del bulbo olfatorio (A<sub>16</sub>) y las neuronas interflexiformes de la retina (A<sub>17</sub>). 2) sistemas de longitud intermedia, conformados por el sistema tuberohipofisiario, que se origina en las células dopaminérgicas de los núcleos hipotalámicos arqueado y periventricular (A<sub>12</sub>), cuyos axones terminan en el lóbulo intermedio de la hipófisis y en la eminencia media, además de las neuronas del hipotálamo dorsal y posterior (A<sub>13</sub> y A<sub>14</sub>), que proyectan al hipotálamo dorsal anterior y a los núcleos septolaterales. El grupo periventricular medular, que incluye a las neuronas periféricas de los núcleos del tracto solitario y motor dorsal del nervio vago, y las células dispersas en la prolongación tegmental de la materia gris periacueductal (A<sub>15</sub>). Finalmente, 3) sistemas largos, que incluyen las neuronas de la región retrorubral (A<sub>8</sub>) del ATV (A<sub>10</sub>) y sustancia *nigra* compacta (A<sub>9</sub>) estas envían proyecciones a tres regiones principales: el neocórtex (núcleos caudado y putamen), corteza límbica (entorrinal, prefrontal medial y cíngulo) y otras estructuras límbicas (septum, tubérculo olfatorio, NAcc, amígdala y corteza piriforme (Bahena-Trujillo, Flores & Arias-Montaño, 2000).

Los sistemas largos son una parte primordial en el funcionamiento del circuito de la recompensa y para fines de análisis se pueden dividir principalmente en tres partes principalmente (Haleem, 2010):

1. Vía nigroestriatal: Se origina en la sustancia *nigra pars compacta* (SNc) e inerva al estriado dorsal (caudado) asociado principalmente con el movimiento.
2. Vía mesolímbica: El cuerpo de las neuronas que constituyen la vía mesolímbica está localizado en el ATV y sus axones inervan al NAcc asociado con la actividad motora y la recompensa.
3. Vía mesocortical: Los cuerpos ubicados en el núcleo parabraquial del ATV proyectan hacia estructuras corticales relacionadas con funciones cognitivas, atención y memoria.

Como se mencionó previamente todas las drogas de abuso tienen la capacidad de aumentar las concentraciones de DA en el sistema mesocorticolímbico, debido a que provocan cambios tanto en la vía mesolímbica como en la vía mesocortical. En este sentido, se han realizado estudios que demuestran que todas las drogas de abuso, como los opiáceos, el alcohol, la nicotina, las drogas tipo ANF y la cocaína producen una acumulación de DA principalmente en el NAcc (Di Chiara, 1995).

- *Incremento de DA en el sistema de la recompensa por drogas de abuso*

Si se alterara el funcionamiento del sistema de la DA en el NAcc, bloqueando los receptores dopaminérgicos o por la destrucción de las fibras provenientes del ATV, los animales no serían capaces de obtener reforzadores, debido a que no se presentan las conductas motivadas (Roberts & Koob, 1982; Roberts, Koob, Klonoff & Fibiger, 1980). Pareciera que al animal no le importa comer o beber, a pesar de la disponibilidad de los reforzadores. Es como si perdiera la capacidad de anticipar el reforzador que se le proporcionará. Esta evidencia demuestra que el NAcc y la DA son elementos centrales del sistema de recompensa y de la generación de la sensación subjetiva de placer ante la obtención de reforzadores.

Adicionalmente, existe una amplia evidencia científica que apoya la hipótesis del incremento de la DA debido al consumo de las drogas de abuso. Por ejemplo, estudios de microdiálisis en el NAcc mostraron que la autoadministración aguda de diferentes drogas adictivas como la heroína, la cocaína y la ANF está asociada a una liberación de DA (Hemby, Co, Dworkin & Smith, 1999). Se ha demostrado que la inyección intravenosa de cocaína, morfina o ANF tiene como consecuencia una mayor liberación de DA en el *shell* del NAcc (Kupfermann, Kandel, & Iversen, 2001).

Otros estudios, han mostrado que el pretratamiento con antagonistas de los receptores de la familia D<sub>2</sub> pueden bloquear las autoadministraciones de ANF en monos y ratas. Asimismo el pretratamiento con agonistas de los receptores D<sub>2</sub>, puede desplazar hacia la izquierda la curva dosis-respuesta de autoadministraciones de cocaína, lo que indica que estos agonistas dopaminérgicos incrementan el efecto reforzante de la cocaína (Caine, Negus, Mello & Bergman, 1999; Grech, Spealman & Bergman, 1996).

Por otra parte, los recientes avances tecnológicos en la genética del ratón, la transferencia de genes mediada por virus y la optogenética, han hecho posible determinar el papel de células neuronales específicas en el comportamiento relacionado con la recompensa a un grado que no era posible en las investigaciones anteriores. Por ejemplo, un estudio de optogenética utilizó un canal catiónico activado por luz, canal rodopsina 2 (ChR2 por sus siglas en inglés), para demostrar que la estimulación de las neuronas dopaminérgicas del ATV era suficiente para impulsar la autoestimulación intracraneal en ratas, se demostró que promovió un condicionamiento de preferencia de lugar, lo que confirma su papel en la inducción de la recompensa del cerebro (Witten et al., 2011).

En el NAcc, la estimulación optogenética de las neuronas espinosas medianas mediante los receptores dopaminérgicos de tipo D<sub>1</sub> mejoró el condicionamiento de preferencia de lugar y la actividad motora inducida por

cocaína mientras que la estimulación de las neuronas espinosas medianas a través de los receptores del tipo D<sub>2</sub> produjo el efecto contrario (Lobo et al., 2010). Además, la estimulación optogenética de las neuronas de tipo D<sub>1</sub> en el NAcc indujo un aumento persistente en la palanca asociada a la droga, mientras que la estimulación de las neuronas de tipo D<sub>2</sub> indujo una disminución (Kravitz, Tye & Kreitzer, 2012). Todos estos datos sustentan la premisa de que el NAcc es un sitio importante para la integración de las respuestas asociadas a las drogas de abuso.

Sin embargo, a pesar de que las terminales dopaminérgicas son el principal sitio de acción de los psicoestimulantes, el tratamiento para la adicción mediante esta vía no ha resultado exitoso, debido a que los tratamientos con compuestos dopaminérgicos al parecer producen efectos colaterales de suma importancia (Witkin, 1994); por lo que se sugirió el estudio de vías o sistemas alternos de neurotransmisión que pudieran modular de forma indirecta la liberación de DA en el sistema de la recompensa del cerebro.

El efecto reforzante de los psicoestimulantes puede ser influenciado por la manipulación de otros sistemas de neurotransmisión que se interconectan con el sistema dopaminérgico, como la modulación por el sistema de neurotransmisión de la 5-HT.

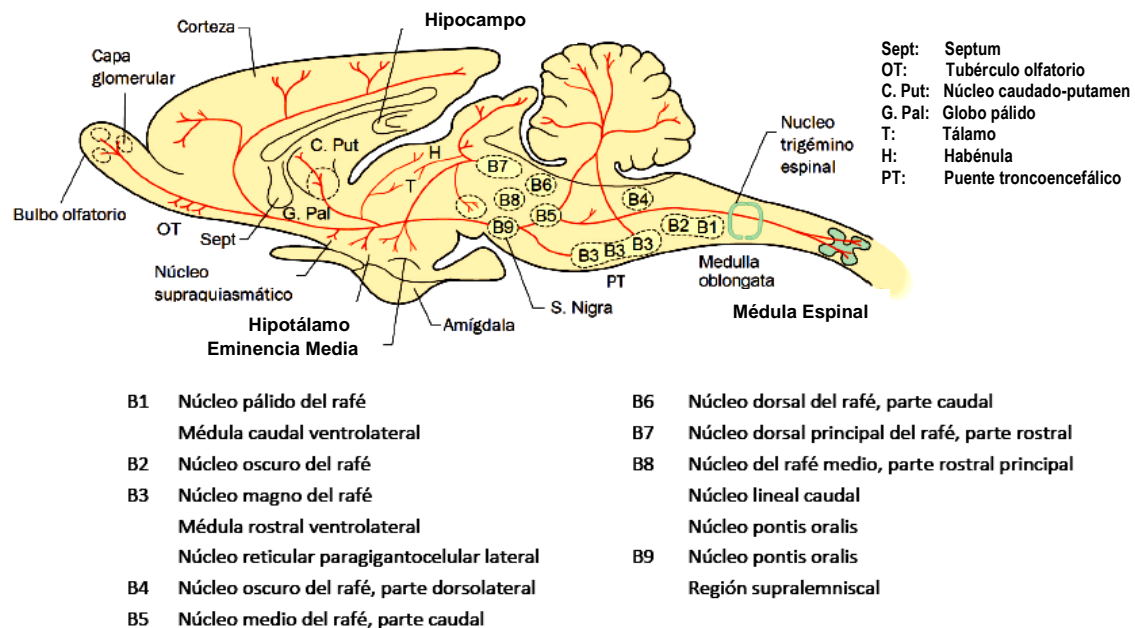


## EL SISTEMA SEROTONINÉRGICO Y SU RELACIÓN CON LA ADICCIÓN A LAS DROGAS DE ABUSO

Estudios en organismos vivos han mostrado que la 5-HT se encuentra distribuida en el reino animal en vertebrados e invertebrados, en el reino vegetal (plantas, frutas, nueces, etcétera) y en mamíferos en el sistema nervioso periférico (en las células enterocromafines de la mucosa gastrointestinal, las plaquetas, ciertos nervios de los vasos sanguíneos, los pulmones y el corazón) y a pesar de que solo el 2% se encuentra en el SNC, desempeña un papel muy importante como neurotransmisor (Rapport, Green & Page, 1948; Sánchez-López, Centurión, Lozano-Cuenca, Muñoz-Islas, Cobos-Puc & Villalón, 2009).

Los cuerpos celulares de las neuronas que contienen 5-HT se encuentran en el núcleo del rafé del tallo cerebral, en algunas regiones de la formación reticular, en el área postrema, el *locus coeruleus* caudal y el núcleo interpeduncular, entre otros. Dahlström y Fuxe describieron en 1964 nueve grupos de células serotoninérgicas, clasificados de B<sub>1</sub> hasta B<sub>9</sub> (Figura 2), ocupando la mayor parte del volumen el núcleo del rafé. Törk (1990) describe la distribución de neuronas serotoninérgicas en dos sistemas caudal y rostral. El sistema caudal contiene los grupos de células desde B<sub>1</sub> hasta B<sub>4</sub>, localizados en la región media y paramedial de la médula, los axones de estas células descienden a lo largo de la médula por diferentes vías. Algunas de las fibras serotoninérgicas (localizadas en B<sub>3</sub> núcleo del rafé) viajan en el fascículo dorsolateral y terminan en la sustancia gris particularmente en las láminas I y II. Una segunda proyección desciende del núcleo del rafé pálido (B<sub>1</sub>) y el núcleo del rafé oscuro (B<sub>2</sub> y B<sub>4</sub>) y termina sobre neuronas motoras. Finalmente, las neuronas serotoninérgicas de la médula espinal rostro-ventral (parte de las B<sub>3</sub>) inervan a las células del sistema preganglionar del núcleo intermediolateral de la médula torácica. El sistema rostral da origen a proyecciones locales cerebelosas y ascendentes. El núcleo pontino del rafé (B<sub>5</sub>) contiene sólo unas pocas neuronas serotoninérgicas. El núcleo del rafé dorsal (B<sub>7</sub>) tiene proyecciones hacia el complejo caudado-putamen y sustancia

*nigra* alcanzando algunas fibras el NAcc y el globo pálido. Los agregados más grandes de neuronas serotoninérgicas se encuentran en el grupo rostral, en el núcleo del rafé medio (B<sub>8</sub>), localizado en la parte ventromedial de la sustancia gris periacueductal y en el núcleo mediano del rafé y sus fibras se dirigen por el haz prosencefálico medial al hipotálamo. Las neuronas del grupo B<sub>9</sub> son una extensión lateral del grupo B<sub>8</sub>, que ocupa una posición dorsomedial al lemnisco lateral. Las neuronas serotoninérgicas más rostrales se encuentran en el núcleo lineal y en el campo retrorrubal. El núcleo lineal se extiende desde el cruce del pedúnculo cerebeloso superior hasta el núcleo interpeduncular, donde las neuronas serotoninérgicas se entremezclan con células dopaminérgicas del área tegmental ventral. De esta forma las proyecciones neuronales de estas áreas inervan virtualmente a todas las regiones del SNC y la 5-HT al actuar como neurotransmisor, regula un gran número de procesos fisiológicos y juega un papel importante en algunos procesos psicopatológicos entre ellos la adicción a las drogas de abuso.



*Figura 2.* Representación esquemática de la localización, clasificación y principales proyecciones de los grupos de cuerpos celulares serotoninérgicos, de acuerdo con Dahlström y Fuxe, en una sección sagital del SNC de la rata. Modificado de Siegel, Agranoff, Albers, Fisher & Uhler (1999).

## **Síntesis y metabolismo de la serotonina**

La combinación del grupo hidroxilo en la posición cinco del grupo indol y una amina nitrogenada primaria actuando como aceptador de un protón a pH fisiológico, hace de la 5-HT una sustancia hidrofílica. Como tal, no traspasa la barrera hematoencefálica fácilmente, por lo que debe ser sintetizada en el cerebro. El paso inicial en la síntesis de 5-HT (Figura 3) es el transporte del aminoácido L-triptófano (aminoácido esencial ingerido en la dieta) de la sangre hasta las neuronas serotoninérgicas del cerebro, donde es hidroxilado por medio de la enzima triptófano-hidroxilasa, que lo convierte en 5-hidroxitriptófano (5-HTP). El siguiente paso consiste en la descarboxilación del 5-hidroxitriptófano por la enzima 5-hidroxitriptófano descarboxilasa, que convierte 5-HTP en 5-HT. Como con otros neurotransmisores amino-biogénicos, la 5-HT es almacenada primariamente en vesículas y es liberada, por un mecanismo denominado exocitosis donde las terminales serotoninérgicas hacen contacto sináptico con las neuronas objetivo y el neurotransmisor es liberado y difundido, siguiendo la estimulación nerviosa. La actividad de la 5-HT en la sinapsis se termina, primordialmente, por su recaptura en terminales serotoninérgicas. Los efectos sinápticos de la 5-HT terminan por su unión a proteínas específicas de transporte. Otro mecanismo para terminar la acción del neurotransmisor es mediante su degradación por medio de la monoaminoxidasa (MAO), dando como producto final el ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) (Feldman, Meyer & Quenzer, 1996).

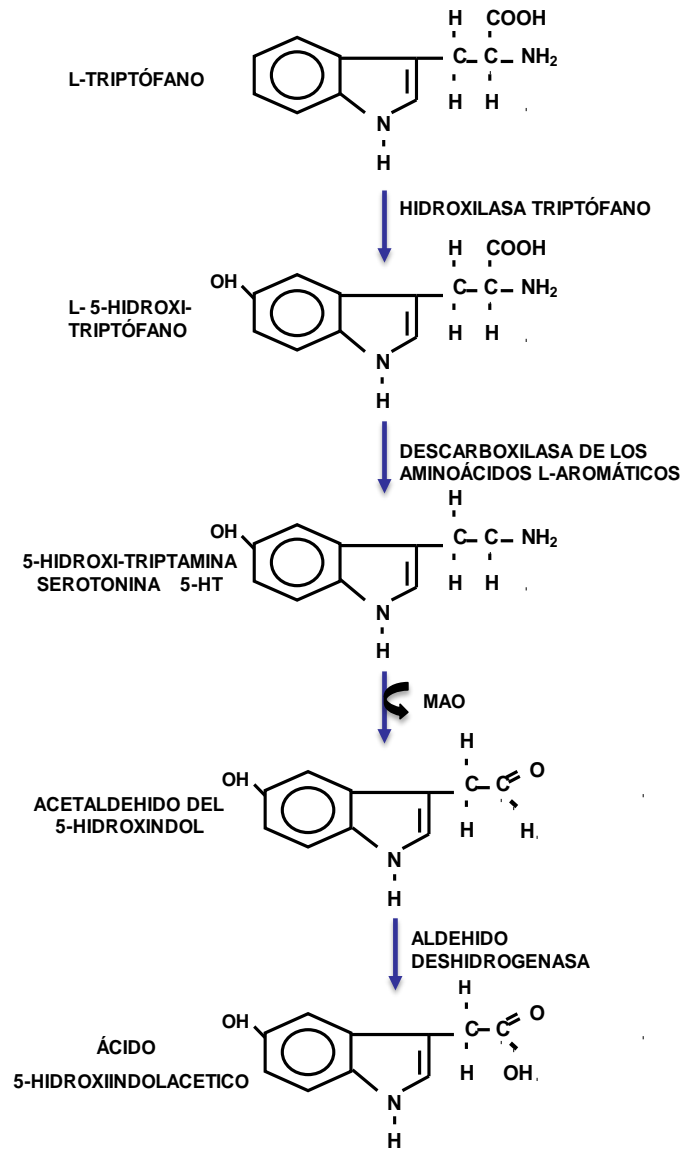


Figura 3. Síntesis y metabolismo de la 5-HT, el triptófano es hidroxilado por la enzima triptófano hidroxilasa, convirtiéndolo en 5-hidroxitriptófano, la 5-OH triptamina descarboxilasa le quita un grupo carboxilo, dando como resultado la 5-HT, que se degrada por medio de la MAO, el metabolito final es el 5-hidroxi-indolacético.

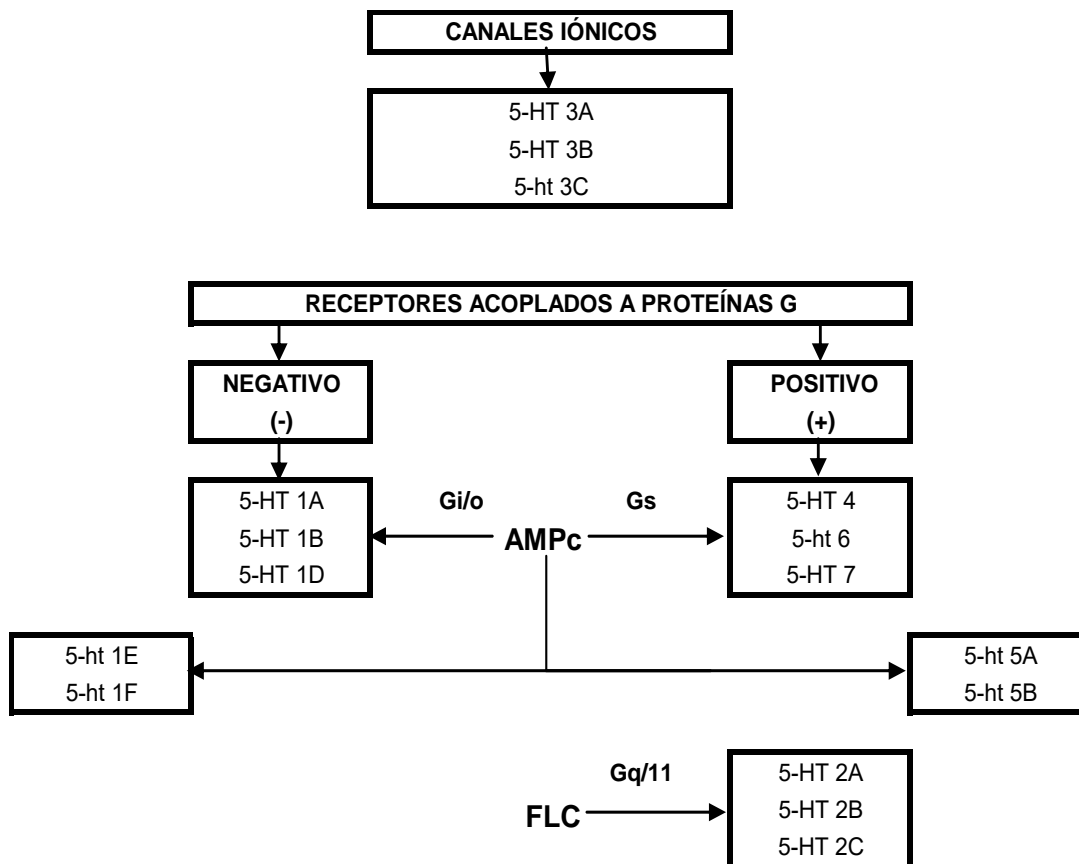
## Clasificación de receptores serotoninérgicos

Hoyer et al., (1994) propusieron una clasificación de acuerdo a estudios realizados con técnicas de la biología molecular. Esta clasificación se basó en tres criterios, el primero de tipo operacional referente a las características relacionadas de los fármacos con afinidad para el receptor, un ejemplo de ello son agonistas-antagonistas y constantes de disociación. El segundo criterio es de tipo transduccional y se refiere a los mecanismos intracelulares de transducción de la información nerviosa, es decir, los eventos producidos por la interacción fármaco-receptor. El tercer criterio es de tipo estructural y se refiere al origen genético de los receptores y la secuencia de aminoácidos que los constituyen. Así, los receptores fueron clasificados en siete familias. El grupo de receptores 5-HT<sub>1</sub>, con alta afinidad por la 5-HT, y que incluía los subtipos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub> y se incluyó a nuevos miembros que fueron clonados y clasificados como 5-ht<sub>1E</sub> y 5-HT<sub>1F</sub>. Además, se incluyó a los 5-HT<sub>1-like</sub>, un grupo de receptores diferente a cualquiera de los subtipos 5-HT<sub>1</sub> y que se distinguían de los receptores 5-HT<sub>1A/1B/2C</sub> aunque mostraban similitud con los receptores 5-ht<sub>1E</sub> y 5-HT<sub>1F</sub>.

En el grupo de receptores 2 se incluyó al receptor 5-HT<sub>1C</sub> por su gran homología estructural con el receptor 5-HT<sub>2</sub> y por compartir el mismo sistema de transducción de segundo mensajero, bajo estas características fue denominado 5-HT<sub>2C</sub> y al anterior receptor 5-HT<sub>2</sub> se le nombró 5-HT<sub>2A</sub>, incluyéndose un nuevo receptor: el 5-HT<sub>2B</sub> (Kursar, Nelson, Wainscott, Cohen & Baez, 1992). De igual manera, se clasificó el grupo de receptores 5-HT<sub>3</sub> que median las acciones despolarizantes de la 5-HT a través de un mecanismo de canales iónicos, y a los grupos de receptores 5-HT<sub>4</sub>, 5-ht<sub>5</sub>, 5-ht<sub>6</sub> y 5-ht<sub>7</sub>. Las letras minúsculas en los receptores 5-ht<sub>1E</sub>, 5-ht<sub>1F</sub>, 5-ht<sub>5</sub>, 5-ht<sub>6</sub>, y 5-ht<sub>7</sub>, significan que su designación debe considerarse provisional a causa de que no hay ligandos selectivos para ellos (Hoyer et al., 1994).

Con base en estudios previos, Hoyer, Hannon y Martin en el 2002, proponen una clasificación más precisa y refinada (Figura 4), en la cual, sugieren

7 clases distintas de receptores a 5-HT de acuerdo a sus características estructurales y operacionales, así como 16 subtipos de receptores, de los cuales 13 pertenecen a la superfamilia de receptores asociados a las proteínas G y uno está asociado a canales iónicos activados por ligandos.



*Figura 4.* Clasificación de los receptores serotoninérgicos (Tomado de Hoyer, Hannon y Martin, 2002), dividido en 13 receptores asociados a las proteínas G (5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-ht<sub>1E</sub>, 5-ht<sub>1F</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-ht<sub>5A</sub>, 5-ht<sub>5B</sub>, 5-ht<sub>6</sub> y 5-HT<sub>7</sub>) y 1 receptor asociado a canales iónicos (5-HT<sub>3</sub>). Los receptores colocados a la izquierda de la figura están acoplados negativamente a la adenil ciclasa, los receptores colocados a la derecha están acoplados positivamente a la adenil ciclasa o a la fosfolipasa C.

Como podemos ver, se han reconocido varios subtipos de receptores que difieren en su farmacología, biología molecular y mecanismo de acción. Algunos investigadores han propuesto que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> modulan algunos efectos conductuales de la adicción a las drogas. Por lo tanto es importante profundizar en su conocimiento.

## **Receptores 5-HT<sub>1A</sub>**

Los receptores 5-HT<sub>1A</sub> son relevantes debido a que regulan diferentes funciones, entre las que se encuentran la modulación de los efectos conductuales, bioquímicos y celulares de los psicoestimulantes y la depresión, entre muchos otros (Müller et al., 2007). Este receptor es del que se tiene mayor conocimiento porque se han desarrollado diferentes fármacos selectivos para su estudio, por lo tanto, en los siguientes apartados se revisarán algunos aspectos importantes como su localización, estructura molecular, sistema de transducción y farmacología.

- *Localización de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>*

En el cerebro la distribución de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> se ha caracterizado por medio de técnicas como la autorradiografía del receptor, hibridación *in situ*, inmunocitoquímica y estudios de tomografía por emisión de positrones (PET, por sus siglas en inglés) en roedores, primates y humanos donde se ha demostrado una alta correlación entre la unión al receptor con [<sup>3</sup>H]-8-OH-DPAT y la distribución del ARN mensajero de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Pompeiano, Palacios & Mengod, 1992). Una alta densidad de receptores 5-HT<sub>1A</sub> se ha encontrado en el núcleo del rafe dorsal y medial, áreas límbicas como el hipocampo, el septum lateral, la amígdala y en las zonas corticales límbicas como la corteza entorrinal y cingular.

En menor densidad se han detectado receptores 5-HT<sub>1A</sub> en el bulbo olfatorio, el tálamo, hipotálamo, el núcleo paraventricular hipotalámico, varios núcleos del tallo cerebral y la neocorteza. Finalmente, en densidades bajas se han

encontrado en los ganglios basales y el cerebelo (Albert, Zhou, Van-Tol, Bunzow & Civelli, 1990; Carrasco, Barker, Zhang, Damjanoska, Sullivan & Garcia et al., 2004; Gozlan, El-Mestikawy, Pichat, Glowinski & Hamon, 1983).

En el cerebro existen dos tipos de receptores 5-HT<sub>1A</sub>, los autorreceptores somatodendríticos y los receptores postsinápticos que a pesar de tener un perfil similar de unión de radioligando han mostrado poseer diferentes propiedades funcionales (Blier, Lista, De Montigny, 1993a, b)

Por ejemplo, en estudios de *binding* (mide la unión fármaco-receptor en cantidad y afinidad) con [<sup>3</sup>H]-8-OH-DPAT sugieren que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> pueden encontrarse en dos estados funcionales que se caracterizan por una alta o baja afinidad al agonista. Estos dos estados posiblemente reflejan la unión a la proteína G del receptor asociado (alta afinidad) y la unión del receptor sin asociación a la proteína G (baja afinidad) (Mongeau, Welner, Quirion & Suranyi-Cadotte, 1992). Además, es importante considerar las concentraciones del receptor que podrían explicar por qué los mismos fármacos pueden actuar como agonistas completos en algunas áreas y sólo como agonistas parciales en otras (Hamon, Gozlan, El-Mestikawy, Emerit, Bolaños & Schechter, 1990).

#### *-Receptores presinápticos 5-HT<sub>1A</sub>*

Actualmente, se sabe que dosis bajas de agonistas a receptores 5-HT<sub>1A</sub> activan preferencialmente a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> somatodendríticos que actúan como autorreceptores inhibiendo los disparos de las neuronas serotoninérgicas en las terminales del núcleo del rafé dorsal y medial. La activación de autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> imita los efectos sistémicos de agonistas 5-HT<sub>1A</sub> causando una disminución extracelular de 5-HT de manera específica. Estos efectos pueden ser bloqueados por diversos antagonistas a receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Haleem, Kennett & Curzon, 1990; Müller et al., 2007; Pazos & Palacios, 1985; Pompeiano, Palacios & Mengod, 1992; Riad, García, Watkins, Jodoin, Doucet, Lamglois et al., 2000). En general,



los receptores 5-HT<sub>1A</sub> somatodendríticos del núcleo del rafé son de suma importancia en la regulación de la actividad de neuronas serotoninérgicas de proyección (Stamford, Davidson, McLaughlin & Hopwood, 2000).

#### *-Receptores postsinápticos 5-HT<sub>1A</sub>*

En varias regiones terminales del cerebro medio se encuentran proyecciones serotoninérgicas que surgen del núcleo del rafé dorsal y del núcleo del rafé medial que contienen receptores 5-HT<sub>1A</sub> postsinápticos localizados principalmente en las dendritas o en el soma de las neuronas postsinápticas no serotoninérgicas. En el sistema límbico se encuentran a nivel postsináptico, particularmente en el hipocampo, corteza prefrontal y NAcc donde terminan neuronas dopaminérgicas de las vías mesocortical y mesolímbica (Doherty & Pikel, 2001; Walsh & Cunningham, 1997). Se ha reportado que altas dosis de agonistas a receptores 5-HT<sub>1A</sub> estimulan preferencialmente a los receptores postsinápticos (Mueller et al., 2007).

#### ○ *Estructura molecular*

Los primeros estudios realizados sobre la estructura de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> purificados de hipocampo de rata, demostraron que el complejo receptor 5-HT<sub>1A</sub> correspondía a una glicoproteína con un peso molecular de alrededor de 150 kilodaltons (kDa), que en presencia de guanósín trifosfato (GTP) se disociaba en dos componentes de 60 y 90 kDa. El componente menor, de 60 kDa, correspondía al receptor en sí mismo, mientras que el componente de 90 kDa correspondía a una proteína G asociada (Harrington, Zhong, Garlow & Ciaranello, 1992; Lanfumey & Hamon, 2000).

El receptor 5-HT<sub>1A</sub> fue de los primeros en ser clonado y secuenciado completamente, el gen que codifica a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> se encuentra localizado en el *locus* del cromosoma 5 (5q11.2-q13) en humanos, y en ratas, en

la parte distal del cromosoma 13. Este receptor consiste en una proteína de 422 aminoácidos (Figura 5), cuya secuencia polipeptídica contienen siete fragmentos o porciones transmembranales de unos 20 aminoácidos cada uno. Existe un alto grado de homología en la secuencia transmembranal de todos los receptores de 5-HT acoplados a proteínas G, exceptuando la porción amino terminal y la tercera porción intracelular, que son específicas para cada tipo de receptor y por lo tanto permiten la producción de anticuerpos específicos antirreceptor (El Mestikawy, Fargin, Raymond, Gozlan & Hnatowich, 1991; Vergé & Hamon, 1997).

El grupo amino terminal se sitúa en el exterior de la célula, mientras que el grupo carboxilo terminal se localiza intracelularmente. Principalmente en la segunda y tercera porción intracelular, existen lugares destinados a la fosforilación mediante el acoplamiento con enzimas proteínas cinasas (específicamente con la proteína cinasa C), el tercer dominio intracelular es largo ya que cuenta con 132 aminoácidos y una terminal corta con apenas 18 aminoácidos, mostrando una homología del 89% entre ratas y humanos, en el caso de los receptores de roedores tiene un cadena de aminoácidos más larga (Albert, Lee, Bolden, Wurzbürger & Aguanno, 1992; Albert et al., 1990; Fargin, Raymond, Lohse, Kobilka, Caron, & Lefkowitz, 1988; Kobilka, Frielle, Collins, Yang-Feng, Kobilka, Francke et al., 1987). El fragmento o lazo de localización intracelular que une el quinto y sexto fragmentos transmembranales, constituye la región del receptor a través de la cual interactúa con una compleja familia de proteínas intracelulares, las proteínas G, que son esenciales para la traducción de la señal recibida por el receptor (Hamon, 2000).

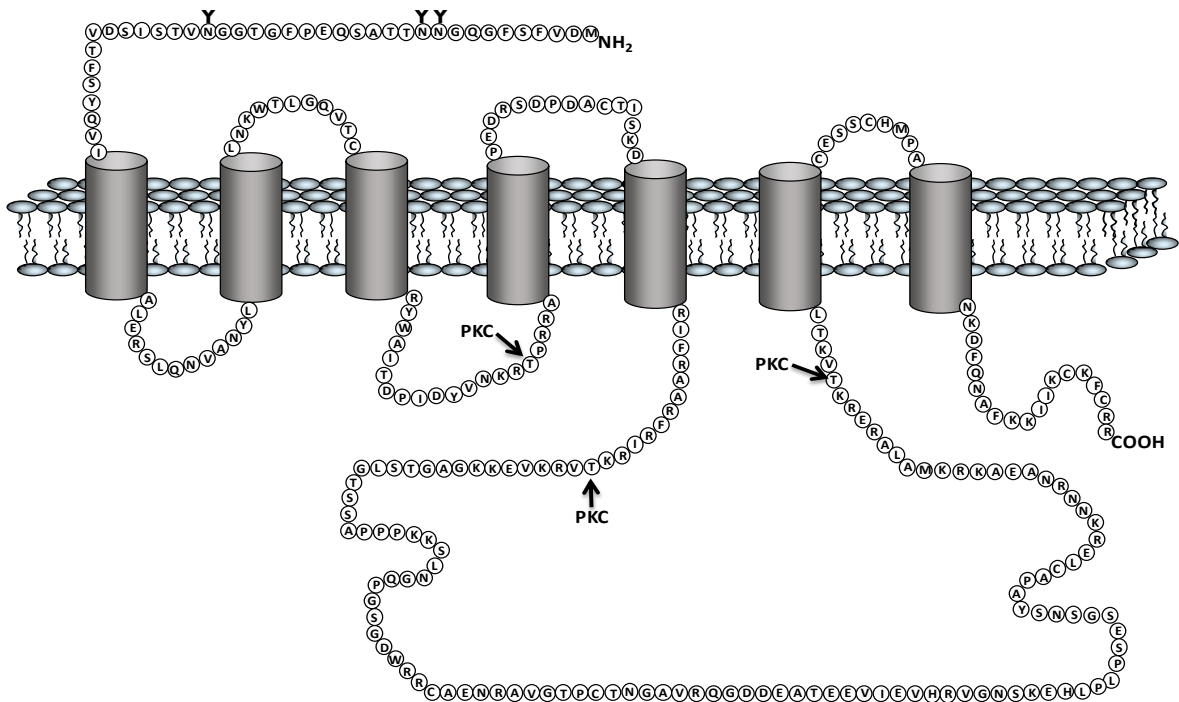


Figura 5. Modelo de la topología transmembranal de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Modificado de Hamon, 2000). El símbolo Y indica los sitios de N-glicosilación. Las flechas indican los sitios de fosforilación por la proteína cinasa C (PKC).

- *Transducción de señales de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>*

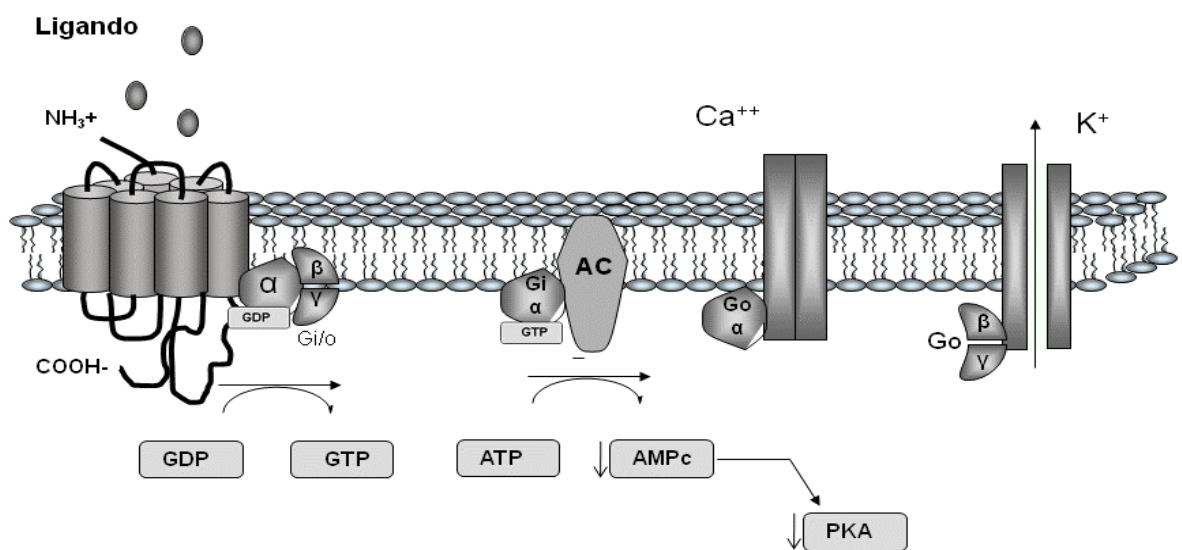
Estudios *in vitro* indican que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> se acoplan a la familia de proteínas G<sub>i</sub>/G<sub>o</sub> incluyendo las proteínas G<sub>i1</sub>, G<sub>i2</sub>, G<sub>i3</sub> y G<sub>o</sub>. Existen diferencias regionales en el acoplamiento de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> a las proteínas G, en el hipocampo los receptores 5-HT<sub>1A</sub> se acoplan a proteínas G<sub>o</sub>; en la corteza frontal a proteínas G<sub>o</sub> y G<sub>i3</sub>; en el núcleo del rafé dorsal a proteínas G<sub>i3</sub> y en el hipotálamo a proteínas G<sub>i1</sub>, G<sub>i3</sub> y G<sub>iz</sub> (Hensler, Cowley, Kishi, Tecott, Fan, Low et al., 2003; Li, Battaglia & Van de Kar, 1997; Serres, Li, Garcia, Raap, Battaglia, Muma & Van de Kar, 2000).

Las proteínas G son llamadas así porque reconocen o interactúan con el GTP. Su estructura está constituida por tres subunidades:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . La subunidad  $\alpha$  es variable y es la que posee el lugar de unión a los nucleótidos de guanina GTP y guanosindifosfato (GDP). Se han identificado varias isoformas de las diferentes subunidades. El tipo de subunidad  $\alpha$  confiere a las distintas proteínas G su especificidad funcional y su nombre: las proteínas  $G_s$  y  $G_i$  fueron inicialmente identificadas por su acción de estimular o inhibir, respectivamente, a la adenil ciclasa. Los receptores 5-HT<sub>1A</sub> interaccionan básicamente con las proteínas  $G_i$ , la proteína  $G_q$  estimula la enzima fosfolipasa C, y la  $G_o$  la cual probablemente abre y cierra directamente canales iónicos (Raymond, Mukhin, Gelasco, Turner, Collinsworth, Gettys et al., 2001). Todas las proteínas G pueden ser activadas por estimulación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>. El hecho de que el mismo tipo de receptor puede estar unido a diferentes tipos de proteínas permite explicar los diferentes efectos inducidos por agonistas y antagonistas de estos receptores en distintas áreas cerebrales (Lamfumey & Hamon, 2000).

Las proteínas G se consideran las moléculas transductoras de la señal química porque acoplan la unión del mensajero químico al receptor con la respuesta celular. La forma inactiva de la proteína G está unida al GDP y mantiene asociadas sus tres subunidades. La interacción del agonista con el receptor 5-HT<sub>1A</sub> cambia su conformación y favorece el intercambio de GDP en GTP (forma activa) en la subunidad alfa. La proteína G activada se desacopla del receptor en las subunidades alfa-GTP y el dímero  $\beta$ - $\gamma$ . En el mecanismo de transducción de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Figura 6), están involucradas dos tipos de proteínas G las  $G_i$  y las  $G_o$ , cuando el receptor es activado, la subunidad alfa-GTP de las proteínas  $G_i$  produce una inhibición de la enzima adenil ciclasa disminuyendo la producción de AMPc y como consecuencia inactiva la proteína-quinasa A (PKA). Mientras tanto la subunidad alfa de las proteínas  $G_o$  cierran los canales de  $Ca^{2+}$  y el dímero beta-gamma de las proteínas  $G_o$  abre los canales rectificadores de la entrada de potasio ( $K^+$ ), la apertura de estos canales provoca una hiperpolarización, que se

traduce en una disminución del disparo de las neuronas serotoninérgicas (Harrington & Peroutka, 1990; Raymond, Olsen & Gettys, 1993).

Otras vías de señalización neural a las que se acoplan los receptores 5-HT<sub>1A</sub> incluyen la apertura de los canales de K<sup>+</sup> (Feldman, Meyer & Quenzer, 2006), la inhibición de canales de Ca<sup>2+</sup> (Raymond et al., 2001), la activación de la fosfolipasa C y de la fosfolipasa A2 y la activación de las quinasas ERK y la MAP (Berridge, 2005).



*Figura 6.* Representación del mecanismo de transducción de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, el ligando se une al receptor y este se acopla a las proteínas Gi/o. Las proteínas Gi inhiben a la adenil ciclasa a través de la subunidad α unida a GTP. Adicionalmente la activación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> produce el cierre de los canales de Ca<sup>2+</sup> a través de la subunidad α de las proteínas Go. Mientras que las subunidades βγ de Go abren los canales de K<sup>+</sup>.

## *Farmacología*

El progreso en el entendimiento de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> se debe a una amplia disponibilidad de compuestos específicos que han mostrado tener alta afinidad por estos receptores. Uno de los primeros agonistas selectivos fue el 8-hidroxi-2-(di-n-propilamina) tetralin, (8-OH-DPAT), que es capaz de discriminar entre los diferentes subtipos de receptores de la familia 5-HT<sub>1</sub>. Este ha sido extensamente utilizado para la caracterización farmacológica de dichos receptores. El 8-OH-DPAT muestra una alta afinidad por los receptores 5-HT<sub>1A</sub> ( $K_i = 0.5$  nM), y una baja afinidad por los receptores D<sub>2</sub> ( $K_i = 86$  nM) y los adrenorreceptores  $\alpha_2$  ( $K_i = 116$  nM). Actualmente se sabe que también puede ser un agonista, aunque con menor afinidad de los receptores 5-HT<sub>7</sub> (Müller et al., 2007). Otro agonista con alta afinidad por los receptores 5-HT<sub>1A</sub> es el MKC-242 también llamado osemozotan ( $K_i = 0.35$  nM), que tiene moderada afinidad por los adrenorreceptores  $\alpha_1$  ( $K_i = 21$  nM). El flesinoxan es un agonista que tiene afinidad por los receptores 5-HT<sub>1A</sub> ( $pK_i = 8.82$ ), sin embargo, también tiene afinidad por otros receptores como los D<sub>2</sub> y los adrenorreceptores.

Los derivados de la piperazina como son la buspirona, gepirona y la ipsapirona, se desarrollaron como ansiolíticos por sus propiedades agonistas a receptores 5-HT<sub>1A</sub>. La ipsapirona y gepirona mostraron tener mayor afinidad para los receptores 5-HT<sub>1A</sub> ( $K_i = 1.8$  y  $13$  nM) que para los receptores D<sub>2</sub> ( $K_i = 110$  y  $58$  nM). La ipsapirona además mostró afinidad por los adrenorreceptores  $\alpha_1$  ( $K_i = 43$  nM). La buspirona ha mostrado tener una afinidad aproximadamente igual para los receptores 5-HT<sub>1A</sub> ( $K_i = 9.2$  nM) y los receptores D<sub>2</sub> ( $K_i = 13$  nM) (Piercey, Smith & Lum-Ragan, 1994).

En el caso de los antagonistas a receptores 5-HT<sub>1A</sub> encontramos el NAN-190 ( $K_i = 0.58$  nM), WAY100135 ( $pK_i = 8.35$ ) y el WAY100635 ( $pK_i = 9.02$ ), los cuales han sido utilizados en diversos estudios donde se ha reportado que actúan bloqueando o inhibiendo las respuestas mediadas por los agonistas (Müller et al, 2007).

## **LOS RECEPTORES 5-HT<sub>1A</sub> COMO BLANCO FARMACOLÓGICO EN LA MODULACIÓN DE LOS EFECTOS CONDUCTUALES DE LAS DROGAS PSICOESTIMULANTES**

Debido a la afinidad por la 5-HT y a la localización de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> como autorreceptores somatodendríticos en el núcleo del rafe y como receptores postsinápticos no es sorprendente que estén involucrados en conductas como actividad motora, memoria, emoción y procesos de reforzamiento. Diversos estudios demuestran que la exposición prolongada a los psicoestimulantes puede alterar la densidad y la función de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, lo que contribuye al desarrollo y mantenimiento de las conductas relacionadas con el consumo de drogas de abuso (Lucki, 1992; Lucki & Wieland, 1990). En este sentido en el siguiente apartado se revisarán algunos estudios donde se evaluó el papel de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en la expresión de los efectos conductuales en la adicción a las drogas de abuso.

### **Evidencia experimental del papel de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en la expresión de los efectos conductuales en la adicción a las drogas de abuso.**

Peltier y Schenk (1993) examinaron los efectos del agonista 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, en la autoadministración de cocaína. Utilizaron ratas que fueron entrenadas a autoadministrarse una infusión de cocaína de 0.5 mg/kg, la dosis fue elegida debido a que las ratas respondieron en tasas moderadas, y esto permitió evaluar si las dosis del 8-OH-DPAT empleadas producen incremento o decremento en la tasa de autoadministración de cocaína después de la administración del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>. Cada rata sirvió como su propio control y se les administraron dosis de (0.0, 0.125, 0.25 y 0.5 mg/kg) del 8-OH-DPAT, en un orden azaroso 30 minutos antes de las pruebas de autoadministración de cocaína. Los resultados mostraron que el 8-OH-DPAT produjo un decremento en las autoadministraciones de cocaína en función de la dosis. Subsecuentemente, se

llevó a cabo otro experimento para evaluar las propiedades reforzantes de la cocaína reduciendo la dosis de cocaína cada tres días (0.5, 0.250, 0.125 y 0.06 mg/kg/infusión). En el tercer día de cada dosis se administró el 8-OH-DPAT 30 min antes de la prueba de autoadministración de cocaína. Los resultados mostraron que conforme se disminuyeron las dosis de cocaína (0.5, 0.250, 0.125 y 0.06 mg/kg) la tasa de autoadministraciones aumentó, mientras que la administración de 8-OH-DPAT (0.5 mg/kg) disminuyó las autoadministraciones de cocaína en la dosis de 0.125 mg/kg/infusión. Estos experimentos demostraron que el agonista 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, redujo las autoadministraciones de cocaína lo que sugiere la participación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en las conductas relacionadas con la adicción a los psicoestimulantes como la cocaína.

Por otra parte, un método para estudiar si los agonistas 5-HT<sub>1A</sub> pueden influir sobre el sistema de la recompensa del cerebro, es medir los efectos en el umbral de la estimulación intracraneal. En este paradigma, las ratas realizan una tarea que es reforzada con la estimulación eléctrica del cerebro. El incremento en el umbral que se requiere para mantener el reforzamiento por la estimulación cerebral, indica una reducción en el valor reforzante de la estimulación eléctrica. La administración sistémica del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub> produjo un efecto bifásico en el umbral de recompensa del cerebro en ratas. La administración sistémica de dosis altas de 8-OH-DPAT (0.1 y 0.3 mg/kg), aumentó los umbrales de reforzamiento (Harrison & Markou, 2001; Montgomery, Rose & Herberg, 1991). Mientras que la aplicación sistémica de dosis bajas (0.003 y 0.03mg/kg), -que activa preferentemente a los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> -redujo los umbrales de reforzamiento y mejoró las respuestas. Asimismo, la aplicación del antagonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, p-MPPI, revirtió los efectos del 8-OH-DPAT, sin embargo, no tuvo un efecto *per se* sobre el umbral de reforzamiento (Harrison & Markou, 2001; Markou, Harrison, Chevrette & Hoyer, 2005). La aplicación local del 8-OH-DPAT en el núcleo del rafé dorsal y en el núcleo del rafé medial, también mostraron efectos diferentes ya que la activación de los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> en el núcleo del rafé medial disminuyó el umbral de reforzamiento (Fletcher, Tampakeras &



Yeomans, 1995), mientras que la activación local de los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> en el núcleo del rafe dorsal no mostró ningún efecto sobre el umbral de reforzamiento (Harrison & Markou, 2001). Esta evidencia sugiere que únicamente la estimulación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> con dosis bajas, está relacionada con los efectos reforzantes de la estimulación eléctrica.

Diversos estudios proporcionan evidencia de la contribución de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, en la evaluación de la actividad locomotora. Se ha reportado que la administración de dosis altas del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT (>0.1 mg/kg) que estimulan a los receptores postsinápticos, puede contribuir a la activación del aparato locomotor (Dourish, Hutson & Curzon, 1985a, b; Jackson, Wallsten, Jerning, Hu, & Deveney, 1998; Lucki, Ward & Frazer, 1989; Müller, Carey, Salloum & Huston, 2003; Trickleban, Middlemiss & Neill, 1986) o a la inhibición tras la administración de dosis bajas del agonista 8-OH-DPAT (<0.05 mg/kg) que activan los receptores presinápticos 5-HT<sub>1A</sub> (Carey, DePalma, Damianopoulos, Hopkins, Shanahan, Müller, & Huston, 2004a; Carey, DePalma, Damianopoulos, Müller, & Huston, 2004b; Carey, DePalma, Damianopoulos, Shanahan, Müller, & Huston, 2005; Carli, Prontera & Samanin, 1989; Dekeyne, Brocco, Adhumeau, Gobert & Millan, 2000; Hillegaart, Wadenberg & Ahlenius, 1989; Mittman & Geyer, 1989).

Además, la administración del antagonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub> NAN-190 (0.5-2.0mg/kg) bloqueó los efectos conductuales inducidos por la cocaína en ratas (King, Joyner, Lee & Ellinwood, 1993). Otro antagonista de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> el WAY100635 (0.4-0.8 mg/kg) atenuó claramente la hiperlocomoción provocada por la cocaína (10.0 y 15.0 mg/kg) cuando se administró 20 minutos antes del tratamiento con cocaína (Carey, Damianopoulos & DePalma, 2000; Carey, DePalma & Damianopoulos, 2001, 2002; Müller, De Souza-Silva, DePalma, Tomaz, Carey & Huston, 2002).

Estudios donde se realizaron administraciones locales, apoyan el papel inhibitorio de los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub>, señalando que existen diferencias en las poblaciones de receptores 5-HT<sub>1A</sub> ya que se han mostrado múltiples disociaciones en las diferentes subpoblaciones de los receptores postsinápticos 5-HT<sub>1A</sub>, en los efectos de hiperlocomoción inducidos por cocaína. La administración local de 8-OH-DPAT en el hipocampo ventral en ratas suprimió la hiperlocomoción producida por la cocaína (Müller, Thönnessen, De Souza Silva, Fink, Bert, Carey et al., 2004b) mientras que su administración en el estriado ventral potenció dicho efecto (Müller, Thönnessen, Barros, Tomaz, Carey & Huston, 2004a).

Estos estudios apoyan la idea de que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> están esencialmente involucrados en la hiperlocomoción inducida por psicoestimulantes (principalmente cocaína y ANF), sin embargo, parece que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> pre y post sinápticos contribuyen de forma diferente.

En estudios de discriminación de drogas, la estimulación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> con el agonista 8-OH-DPAT o agonistas parciales como buspirona o gepirona no sustituyen la señal discriminativa de la cocaína en ratas (Callahan & Cunningham, 1995, 1997; Przegaliński & Filip, 1997; Rapoza, 1993). Sin embargo, cuando se administraron dosis altas de buspirona y 8-OH-DPAT previo a la administración de cocaína, se observó una disminución en éstas propiedades, ambos agonistas eliminaron en general las respuestas asociadas a la cocaína (Callahan & Cunningham, 1995, 1997; Rapoza, 1993).

Young, Bondareva, Wesolowska y Glennon (2006), entrenaron a ratas a discriminar ANF de salina, utilizando un paradigma de condicionamiento operante con una prueba de dos palancas, los resultados mostraron que no hubo una generalización cuando se administró únicamente el 8-OH-DPAT (0.01-0.5 mg/kg) ni tampoco antagonizó los efectos de las propiedades discriminativas de la ANF en las pruebas de combinación donde se administraron en conjunto el agonista y la dosis de entrenamiento de la ANF.

En estudios de discriminación realizados con pichones entrenados a discriminar solución salina de cocaína (1.0 ó 1.7 mg/kg, i.m), se encontró una sustitución parcial de la cocaína con el agonista 8-OH-DPAT (0.03-0.17mg/kg), en dos de cuatro animales analizados y un bloqueo parcial de los efectos discriminativos de la cocaína cuando se administró el antagonista NAN-190 (Johanson & Barrett, 1993).

En un estudio realizado en monos, en pruebas de sustitución donde se administró intragástricamente: ANF (0.56 ó 1.0 mg/kg), buspirona (0.3-1.0 mg/kg), gepirona (0.56-3.0 mg/kg) ó 8-OH-DPAT (0.01-0.1 mg/kg), no se encontró ningún efecto, sin embargo, este estudio reportó una inhibición de las propiedades discriminativas de la ANF por estos agonistas en las pruebas de combinación. La potencia para bloquear las propiedades discriminativas de la ANF (0.5 mg/kg) fue de DE<sub>50</sub> de 0.03, 0.41 y 1.82 mg/kg (im), para 8-OH-DPAT, buspirona y gepirona respectivamente. Considerando la alta eficacia del agonista 8-OH-DPAT en este estudio, la DE<sub>50</sub> sugiere que los efectos observados son mediados principalmente por la activación de los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> y no precisamente por la activación de todas las poblaciones de receptores 5-HT<sub>1A</sub> del cerebro (Nader & Woolverton, 1994).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como se mencionó previamente, los estudios iniciales que exploraron el papel de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, reportaron que los agonistas a receptores 5-HT<sub>1A</sub> resultaron ineficaces para prevenir los efectos conductuales de los psicoestimulantes. A partir de estos hallazgos se puede especular que algunos de los resultados, aparentemente contradictorios, pueden deberse a las diferencias de las dosis que utilizaron en cada uno de los estudios. Si se considera que la población de receptores 5-HT<sub>1A</sub> no es homogénea, ya que se encuentran a nivel presináptico y postsináptico y su estimulación produce efectos conductuales opuestos, podría suponerse que las dosis bajas (en el rango de 0.003 a 0.03 mg/kg) activarían preferencialmente a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> somatodendríticos, inhibiendo la liberación de 5-HT en las terminales presinápticas, mientras que las dosis altas (en el rango de 0.2-1.6 mg/kg) estimularían preferencialmente a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> postsinápticos, inhibiendo la actividad de las neuronas postsinápticas. Los datos actuales sugieren que los autorreceptores somatodendríticos del núcleo del rapé podrían estar involucrados en la inhibición o reducción de las conductas relacionadas con los psicoestimulantes, por lo que sería de interés evaluar los efectos de dosis bajas y altas en conductas relacionadas con los psicoestimulantes como la ANF.

Una estrategia para evaluar lo anterior, es utilizar los procedimientos de discriminación de drogas que proporcionan información sobre los mecanismos neurofarmacológicos que subyacen a los efectos subjetivos de las drogas de abuso. En estos procedimientos se entrena a los animales de investigación a discriminar la droga de entrenamiento de un placebo, generalmente el vehículo de la droga de entrenamiento. Una vez que se aprendió la discriminación droga-vehículo, se valoran los efectos de distintos compuestos para determinar si comparten o no los mismos mecanismos neurofarmacológicos o para averiguar los mecanismos farmacológicos y neurobiológicos a través de los cuales está actuando la droga de entrenamiento.

Aunque originalmente la discriminación de drogas se produjo por medio del condicionamiento operante, de manera relativamente reciente se ha comenzado a utilizar el condicionamiento de aversión a los sabores (CAS) como una línea base conductual para el aprendizaje de la discriminación de drogas. En este procedimiento se aplica un irritante gástrico, generalmente una inyección de LiCl, como el estímulo incondicionado (EI) y la comida o líquido con un sabor particular como el estímulo condicionado (EC). Las principales características del CAS son la rapidez con la que se adquiere la relación de estímulos y su selectividad, ya que los animales asocian con mayor facilidad la relación estímulos interoceptivos-malestar gástrico. Además, es un método sensible, que requiere un equipo de costo bajo y produce respuestas graduadas (Cappell & LeBlanc, 1977; Colpaert, 1987; García, Kimeldorf & Koelling, 1955; LeBlanc, Poulos & Cappell, 1978; Rozin & Kalat, 1971; Miranda & Velázquez-Martínez, 1997; Overton, 1991).

## **HIPÓTESIS**

Si la estimulación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> somatodendríticos mediante la administración sistémica de dosis bajas del agonista selectivo 8-OH-DPAT produce inhibición de la liberación de 5-HT, probablemente inhiba indirectamente la actividad de los receptores 5-HT<sub>1B</sub>, y como una consecuencia de esto, se produzca la desinhibición de las interneuronas GABAérgicas del ATV, resultando en una disminución en las concentraciones extracelulares de DA en NAcc y como consecuencia de lo anterior se alterarían las propiedades discriminativas de la ANF.

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos de la administración sistémica de dosis bajas y altas del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT en la señal discriminativa producida por ANF. Asimismo evaluar si la administración sistémica de una dosis baja de 8-OH-DPAT produce cambios en las concentraciones extracelulares de DA en el NAcc y de GABA en el ATV utilizando microdiálisis cerebral con cromatografía líquida de alta resolución.

### Objetivos específicos

- A. Determinar si los efectos de la ANF adquieren propiedades discriminativas utilizando el procedimiento del CAS.
- B. Evaluar en pruebas de generalización el efecto *per se* de la administración de diferentes dosis de ANF, del agonista 8-OH-DPAT y del antagonista WAY100135.
- C. Evaluar en pruebas de combinación los efectos de la administración conjunta de diferentes dosis del agonista 8-OH-DPAT (altas: 0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg; bajas: 0.003, 0.01 y 0.03mg/kg) más una dosis fija de ANF.
- D. Evaluar en pruebas de combinación los efectos de la administración del antagonista WAY100135 y diferentes dosis del agonista 8-OH-DPAT más una dosis fija de ANF.
- E. Evaluar si la administración sistémica del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT (alta: 1.0 mg/kg y baja: 0.03 mg/kg) y el antagonista WAY100135 (1.0 mg/kg) modifica las concentraciones de DA en el NAcc.
- F. Evaluar si la administración sistémica del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT (alta: 1.0 mg/kg y baja: 0.03 mg/kg) y antagonista WAY100135 (1.0 mg/kg) modifica las concentraciones GABA en el ATV.

## METODOLOGÍA GENERAL

### **Método Conductual: Discriminación de Drogas**

#### *Sujetos:*

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar de aproximadamente 120 días de edad al inicio de la investigación, y de entre 200 y 250 g de peso, provenientes del Bioterio General de la UNAM Campus Iztacala. Se alojaron individualmente en cajas-hogar de acero inoxidable y bajo un ciclo luz-oscuridad controlado (luz: 8:00 am-8:00 pm), a una temperatura ambiente de 23 ( $\pm 1$ ) °C.

#### *Aparatos y escenario experimental:*

Se utilizaron cajas-experimentales de acero inoxidable de 30x20x20 cm en las cuales se colocaron una o dos botellas graduadas invertidas. Las botellas fueron colocadas en el panel frontal de la caja a través de las cuales las ratas tuvieron acceso a los líquidos. Las sesiones de habituación, entrenamiento, las pruebas de generalización y combinación se llevaron a cabo en un cuarto de 4x4 metros iluminado por dos lámparas de luz fluorescente de 100W cada una y con un ruido blanco para enmascarar ruidos.

#### *Fármacos y solución saboreada:*

Se utilizaron sulfato de *d*-anfetamina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), diclorhidrato de WAY100135 (Tocris, Ballwin, MO, USA), Hidrobromuro de 8-hidroxi-2-(di-*n*-propilamino)-tetralina, 8-OH-DPAT, y LiCl (J.T. Baker, Ciudad de México). Todas las dosis de los fármacos se calcularon de acuerdo al peso de la sal y se administraron intraperitonealmente (ip) en un volumen de 1.0 ml/kg, excepto el LiCl que fue administrado en una dosis de 2 ml/kg de 0.177 M. La

solución con sabor fue sacarina (Elly Lilly, México) al 0.15% (p/v) en agua destilada.

*Procedimiento:*

*Habitación al consumo de agua:* 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:

1. *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 finalizar este período, se les administró 2.0 ml/kg de 0.177 M de LiCl.

2. *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 este período, se les administró 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 11 ocasiones en un orden aleatorio, con la única 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 del 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 idéntico a los ensayos salina. El día 4 fue de prueba, la cual consistió en administrar una dosis de una droga 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 para tener el máximo efecto farmacológico, según se ha descrito en la literatura. La secuencia de las drogas y sus dosis se eligió al azar y el ciclo de 4 días se repitió hasta evaluar todas las dosis de las drogas de prueba. Antes de iniciar la evaluación de cada droga, se evaluó la dosis de entrenamiento de la ANF (1.0 mg/kg) y la administración de salina.

*Pruebas de combinación:* Después de un reentrenamiento de la discriminación ANF-salina, se llevaron a cabo las pruebas de combinación que al igual que en las pruebas de sustitución se hicieron sobre un ciclo de 4 días, excepto que en el día 4 se administraron: diferentes dosis del agonista 8-OH-DPAT más una dosis fija de ANF o diferentes dosis del antagonista WAY100135 más una dosis fija 8-OH-DPAT más una dosis fija de ANF.

## **Análisis Estadístico**

En el curso de la adquisición de la discriminación ANF-salina, se registró el consumo de sacarina en los ensayos droga y los ensayos salina y se analizó con un ANOVA de medidas repetidas de dos factores, con los tipos de ensayos (ensayo droga-ensayo salina) como primer factor y el número de ensayo (se analizarán los últimos tres ensayos de cada condición) como segundo factor. Se registró también el consumo de líquidos en las pruebas de generalización y substitución. A partir de estos datos se calculó un índice de aversión a la sacarina el cual se obtuvo con la fórmula  $A/A+B$ ; donde A es el consumo de sacarina y B es el consumo de agua. Con este índice, un valor de 1.0 indica 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 Tukey. En todas las pruebas, el nivel de rechazo del error Tipo I fue de 0.05.

## **Método Bioquímico: Microdiálisis cerebral con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).**

### *Sujetos:*

Se utilizaron 60 ratas macho de la cepa Wistar de aproximadamente 120 días de edad al inicio de la investigación, y de entre 200 y 250 g de peso. Los animales fueron criados y suministrados por el Bioterio General de la UNAM, Campus Iztacala. Los procedimientos del presente estudio cumplieron con la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) que indica las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

### *Fármacos:*

Los fármacos que se utilizaron fueron 8-OH-DPAT (Hidrobromuro de 8-hidroxi-2-(di-n-propilamino)-tetralina) y WAY100135 dihidrocloruro de WAY100135 (Tocris, Ballwin, MO, USA), disueltos en solución salina al 0.9% y administrados intraperitonealmente (ip) en un volumen de 1.0 ml/kg.

### *Procedimiento:*

*Cirugía estereotáxica:* Las ratas fueron anestesiadas con una mezcla de ketamina (112.5 mg/kg, i.p) y xilazina (22.5 mg/kg, i.p.), y se colocaron en un aparato de cirugía estereotáxica (Stoelting; Wood Dale, IL, USA). Para fijar el cráneo del animal, se insertó una barra en cada conducto auditivo externo y para conseguir una absoluta inmovilización de la cabeza se fijaron los incisivos superiores en un dispositivo horizontal (*barra de incisivos*). Con la colocación adecuada y usando como punto de referencia Bregma, se tomaron en cuenta tres direcciones del espacio (antero-posterior [AP], lateral [L] y ventral [V]), se ubicó el *shell* del NAcc mediante el cálculo de coordenadas estereotáxicas a partir de las sugeridas en el atlas estereotáxico (AP: +2.0 mm, L: -0.8 mm y V: -4.5 mm) o el ATV (AP: -6.4

mm, L: -0.5 mm y V: -6.0 mm) (Paxinos & Watson, 2007). La cánula guía fue fijada al cráneo mediante dos tornillos de acero inoxidable y cemento acrílico dental, posteriormente se suturó la herida quirúrgica con hilo de seda. Tras finalizar la cirugía estereotáxica, se aplicó intramuscularmente antibiótico (0.4 ml/kg de enrofloxacin 5%). Los animales tuvieron 5 días de recuperación postoperatoria.

*Microdiálisis cerebral:* Siguiendo el procedimiento quirúrgico ya descrito, se implantó una cánula guía de microdiálisis en el *shell* del NAcc o en el ATV (CMA 12 guide cannula). Una vez que los animales se recuperaron de la cirugía (5 días), se realizaron los experimentos de microdiálisis cerebral. Se usaron cánulas de microdiálisis con membranas de intercambio de 1 mm de longitud y con un diámetro externo de 0.24 mm (CMA 12 microdialysis probe). El líquido de perfusión fue una solución ringer compuesta por 137 mM de NaCl, 1.2 mM de CaCl, 3 mM de KCl, 1 mM de MgSO<sub>4</sub>, 0.5 mM de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2 mM de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> y 3 mM de glucosa. La solución ringer fue perfundida a una velocidad de 2.5 µl/min a través de un microcatéter de polietileno que unía la cánula de microdiálisis a una jeringa de 2.5 ml anclada a una bomba de microdiálisis (CMA/100, Bioanalytical Systems; West Lafayette, Indiana, USA). El sistema de perfusión permitió que el animal estuviera en libre movimiento dentro de un cilindro de acrílico de 55 cm de diámetro. La salida de la cánula de microdiálisis estuvo conectada a un vial para la recolección de las muestras (durante 15 min). La cánula de microdiálisis fue insertada en la guía por lo menos dos horas antes de iniciar la colección de los dializados. Se colectaron al menos tres muestras para medir la concentración extracelular de DA en condiciones basales, posteriormente se realizaron los tratamientos intraperitoneales y se colectaron 6 muestras más de dializado.

*Cuantificación de DA por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de fase reversa con detección electroquímica (EC):* Los dializados cerebrales del *shell* del NAcc, fueron colectados e inmediatamente inyectados para cuantificar la concentración de DA a un sistema de HPLC-RF-EC (Antec Leyden) equipado con un detector electroquímico (Intro, Waters Co.) y una bomba isocrática (515, Waters Co.). Para la separación de las muestras, el sistema cromatográfico consistió de un inyector (Rheodyne) con un asa de 20  $\mu$ l (contenedor de la muestra) que conducía a una columna dC-18 (Atlantis, 2.1 x 50 mm, Waters Co.). La composición de la fase móvil fue 97% buffer: 135 mg/ L de NaCl, 10.5 mg/ L de ácido cítrico, 20 mg/ L de EDTA, 20 mg/ L de OSA y 3% de metanol, un pH de 2.9 ajustado con NaOH, el flujo de la fase móvil fue de 0.35 ml/ min a 30°C. La DA de los dializados fue detectada por oxidación electroquímica con un electrodo de carbono vidriado (VT-03, Antec Leyden) fijado a un potencial de 395 mV con respecto a un electrodo de referencia (ISSAC) y se cuantificó integrando el área bajo la curva correspondiente al tiempo de retención del analito y calculando su concentración tomando como referencia curvas estándar, la señal del detector electroquímico fue procesada empleando el programa *Millenium*<sup>32</sup> (Waters Co.).

*Cuantificación de GABA por HPLC-EC:* Una vez obtenidos los dializados del ATV, se cuantificó la concentración de GABA por HPLC-EC, en grupos de animales diferentes a los usados para DA del NAcc. El aparato utilizado fue el descrito con anterioridad. La composición de la fase móvil fue de 100 mM de di-sodio hidróxido fosfato, 20% metanol, 3.5 % de acetonitrilo, con una pH de 6.7 ajustado con ácido fosfórico, el flujo de la fase móvil fue de 0.45 ml/min a 32.5 °C. El GABA fue detectado por oxidación electroquímica con un electrodo de carbono vidriado (VT-03, Antec Leyden) fijado a un potencial de + 0.550 V con respecto a un electrodo de referencia (ISSAC). Para la detección del GABA se realizó el procedimiento de derivatización precolumna por medio de una solución derivatizadora que contenía: OPA (O-ftaldialdehído), MeOH (metanol), 2 $\beta$ ME (2- $\beta$ -mercapto-etanol) y tetraborato de potasio. Para la derivatización de las muestras (dializados), se





### **Análisis Estadístico:**

En los experimentos de microdiálisis, los 3 valores basales de los contenidos de DA o GABA extracelular (antes de la administración de los fármacos) fueron promediados y este valor constituyó el 100%. Posteriormente, cada uno de los valores de las muestras se convirtió a porcentajes de cambio con respecto del contenido basal. Así, en la sección de resultados, dichos valores se presentan en términos de porcentaje de cambio de cada una de las colectas y la comparación se llevó a cabo utilizando una ANOVA de medidas repetidas de dos vías seguido de una prueba *post test* de Tukey. En todos los casos, el valor de  $p < 0.05$  fue aceptado para determinar la significancia estadística de las diferencias.



## EXPERIMENTO 1

*Evaluación de la administración de dosis bajas y altas del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT y del antagonista WAY100135 en la señal discriminativa de la anfetamina*

En la literatura se descartó el papel de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en las conductas relacionadas con la adicción a los psicoestimulantes debido a que no se encontraron resultados positivos con compuestos selectivos a estos receptores, probablemente por las dosis administradas. Actualmente, se sabe que las dosis bajas de agonistas selectivos de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> activa a los autorreceptores, mientras que las dosis altas activan a los receptores postsinápticos y la activación de uno u otro produce efectos diferentes. El objetivo de este experimento fue evaluar los efectos de la administración de dosis bajas y altas del agonista selectivo de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT en la señal discriminativa de la ANF, utilizando el CAS como procedimiento de discriminación de drogas.

### Método

#### *Sujetos, aparatos y materiales*

Los señalados en el método general.

*Fármacos:* Se utilizó sulfato *d*-anfetamina (0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg), 8-OH-DPAT (dosis bajas: 0.003, 0.01 y 0.03 mg/kg; dosis altas: 0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg) y WAY100135 (0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg). Todos los fármacos fueron disueltos en una solución salina. Además se utilizó sacarina y LiCl según se describió en el método general.

*Procedimiento:* Se entrenó a un grupo de ratas ( $n=10$ ) a discriminar ANF de salina de acuerdo al procedimiento señalado previamente, una vez que los animales aprendieron a discriminar ANF de salina, se realizaron las pruebas de

generalización en ciclos de 4 días. En el primer día los sujetos fueron sometidos a un ensayo droga. En el segundo día tuvieron un periodo de 30 minutos de libre acceso al agua. En el tercer día tuvieron un ensayo salina. En el cuarto día, se administró una dosis de ANF, 8-OH-DPAT o WAY100135, 30 minutos antes de las pruebas de dos botellas. El ciclo se repitió hasta terminar todas las dosis de prueba. Finalmente, se llevaron a cabo las pruebas de combinación según se describió en el método general (Tabla 1).

**Tabla 1**

**Diseño Experimental de Discriminación de Drogas**

ENSAYO	PROCEDIMIENTO	PRUEBAS DE SUBSTITUCIÓN Y COMBINACIÓN	
		COMPUESTOS	PRUEBA DE ELECCIÓN
DROGA	ANF-Sacarina-LiCl	ANF (0.1, 0.3 y 1.0)	Agua-Sacarina
SALINA	Salina-Sacarina-Salina	8-OH-DPAT (0.003, 0.001 y 0.03)	Agua-Sacarina
		8-OH-DPAT (0.1, 0.3 y 1.0)	Agua-Sacarina
		WAY100135 (0.1, 0.3 y 1.0)	Agua-Sacarina
		8-OH-DPAT (0.003, 0.01 y 0.03)+ANF (1.0)	Agua-Sacarina
		8-OH-DPAT (0.1,0.3 y 1.0)+ANF (1.0)	Agua-Sacarina
		WAY100135 (0.1, 0.3 y 1.0)+8-OH-DPAT(0.03) + ANF (1.0)	Agua-Sacarina

Las dosis entre paréntesis se expresan en mg/kg; i.p. (n=10).

## Resultados

*Adquisición de la discriminación ANF-salina:* En la Figura 9 se muestran los resultados del consumo de sacarina durante los ensayos droga y salina. El consumo de sacarina durante la línea base, el primer ensayo droga y el primer ensayo salina fue muy similar, ( $F [2,27]= 1.626, p>0.05$ ). Durante los ensayos en los que se administró la ANF seguida por los apareamientos SAC-LiCl se produjo una reducción del consumo de sacarina. El ANOVA factorial de medidas repetidas mostró diferencias significativas en el consumo de la sacarina en los últimos tres ensayos droga y los tres últimos ensayos salina, ( $F [1,9]= 196.216, p<0.05$ ). Éstas diferencias se debieron al efecto de la condición (ensayo droga y ensayo salina), ya que el número de ensayo no influyó en el consumo de la sacarina, ( $F [2,18]= 0.174, p>0.05$ ), y no hubo interacción entre los factores número de ensayo y tipo de ensayo (ensayo-droga/ensayo-salina), ( $F [2,18]= 0.884, p>0.05$ ).

### Adquisición de la discriminación ANF-Salina

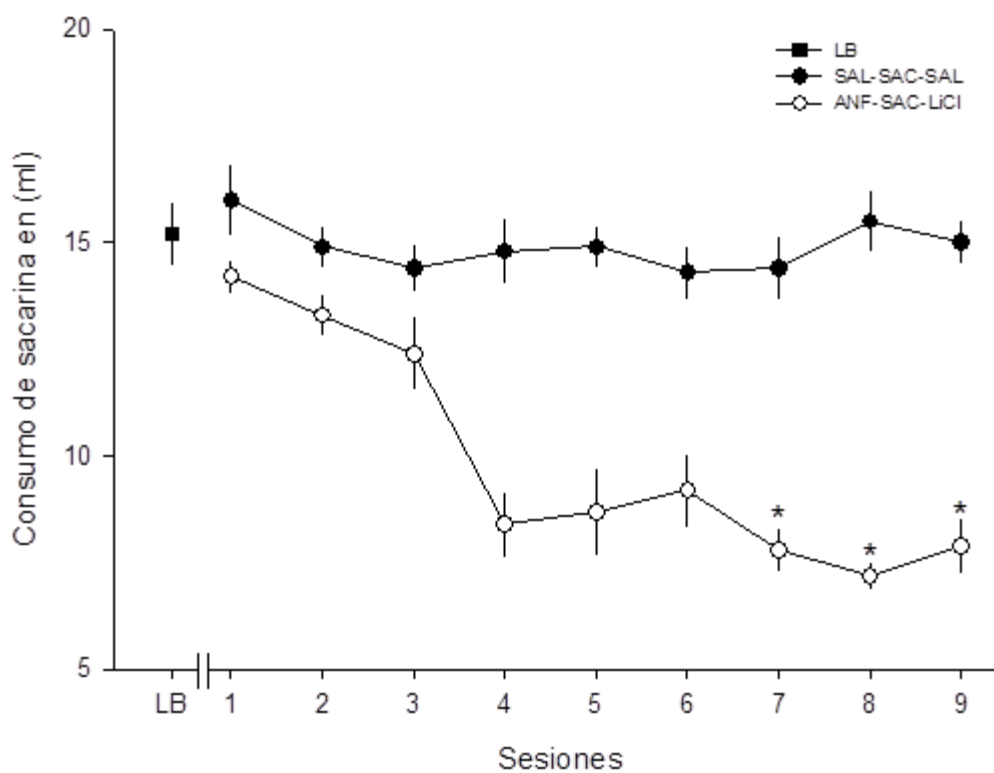


Figura 9. Adquisición de la discriminación ANF-Salina utilizando el CAS como procedimiento de discriminación de drogas. Los círculos representan el consumo promedio de sacarina ( $\pm$ error estándar de la media). LB=línea base. Los asteriscos indican diferencias significativas con los ensayos salina ( $p < 0.05$ , Tukey).

*Pruebas de generalización con ANF:* Los resultados de las pruebas de generalización con diferentes dosis de ANF, muestran que la dosis más alta (1.0 mg/kg) replicó el control discriminativo de la dosis de entrenamiento. El ANOVA simple de medidas repetidas reveló un efecto significativo de la condición de tratamiento, ( $F$  ([4,36]= 14.300,  $p$ <0.05), la prueba *post hoc* Tukey reveló diferencias significativas entre el tratamiento con solución salina, las dosis de 0.1 y 0.3 mg/kg de ANF comparado con la dosis de entrenamiento de ANF (Figura 10, panel superior).

*Pruebas de generalización con ligandos a receptores 5-HT<sub>1A</sub>.* Se evaluaron diferentes dosis del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT (bajas; 0.003, 0.01 y 0.03 mg/kg; altas: 0.1, 0.3 y 1.0) y del antagonista WAY100135 (0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg). Los resultados de estas pruebas mostraron que ninguno de estos compuestos sustituyó la señal discriminativa de la ANF. El ANOVA de medidas repetidas de una vía reveló diferencias significativas para las dosis bajas del agonista 8-OH-DPAT; 0.003, 0.01 y 0.03 mg/kg, ( $F$  [4,36]= 5.039,  $p$ <0.05), al igual que las dosis altas del 8-OH-DPAT; 0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg, ( $F$  [4,36]= 6.064,  $p$ <0.05). En el caso del antagonista WAY100135, el ANOVA de medidas repetidas de una vía también mostró diferencias significativas, ( $F$  [4,36]= 8.632,  $p$ <0.05). El análisis *post-hoc* con la prueba Tukey revelaron que la preferencia por la sacarina en todas las dosis del agonista 8-OH-DPAT y el antagonista WAY100135 fue significativamente diferente a la observada con la dosis de entrenamiento de ANF (Figura 10, panel superior).

*Consumo de líquidos en las pruebas de generalización:* Como se describió en el método general, en todas las pruebas de generalización se midió el consumo total de líquidos para evaluar si la administración de los fármacos producía adiposidad, o algún otro efecto que pudiera enmascarar los resultados de la investigación. Un ANOVA simple mostró que el consumo de líquidos no se afectó por la administración de ANF, ( $F$  [4,45]= 0.876,  $p$ =.486), 8-OH-DPAT (dosis bajas: 0.003, 0.01 y 0.03 mg/kg), ( $F$  [4,45]= 1.269,  $p$ =.296), 8-OH-DPAT (dosis altas: 0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg), ( $F$  [4,45]= 0.977,  $p$ =.430) y WAY100135, ( $F$  [4,45]= 0.420,  $p$ =.794) (Figura 10, panel inferior).

Pruebas de generalización con ANF y ligandos a receptores 5-HT<sub>1A</sub>

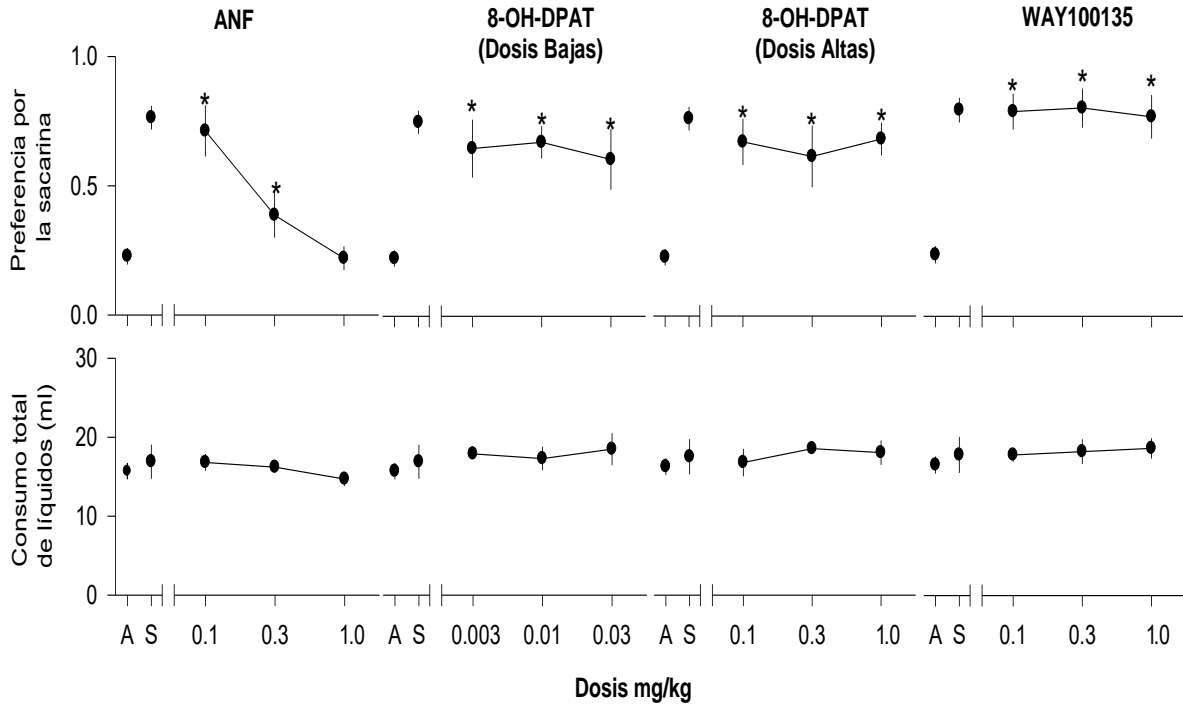


Figura 10. Resultados de las pruebas de sustitución con diferentes fármacos y dosis. Los círculos representan la preferencia por la sacarina ( $\pm$ error estándar de la media), donde 0.0 indica una fuerte aversión a la sacarina y 1.0 indica una preferencia por la sacarina. Los asteriscos indican diferencias significativas, (Tukey,  $p < 0.05$ ) con la dosis de entrenamiento de ANF. La gráfica del panel inferior indica el consumo total de líquidos.

*Pruebas de combinación:* Se evaluaron diferentes dosis altas de 8-OH-DPAT (0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg) más una dosis fija de ANF de 1.0 mg/kg, encontrándose que no hubo diferencias significativas con respecto a la prueba con ANF, ( $F [3,27]= 1.441$ ,  $p>0.05$ ). Sin embargo, en las pruebas de combinación donde se evaluó el efecto de las dosis bajas del agonista 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT (0.003, 0.01 y 0.03 mg/kg) más una dosis fija de ANF (1.0 mg/kg), se encontró que la administración 8-OH-DPAT (0.03 mg/kg) más una dosis de ANF (1.0 mg) decrementó la señal discriminativa de la ANF; la prueba Tukey para comparaciones posteriores reveló diferencias significativas, ( $F [3,27]= 5.938$ ,  $p<0.05$ ) comparado con la prueba de ANF. Finalmente, se evaluó el efecto de la administración de diferentes dosis del antagonista WAY100135 (0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg) más una dosis fija del agonista 8-OH-DPAT (0.03 mg/kg) más una dosis fija de ANF (1.0 mg/kg), observándose que la dosis más alta del WAY100135 (1.0 mg/kg) previno el efecto de la administración conjunta del 8-OH-DPAT (0.03 mg/kg) más una dosis fija de ANF. Además, se encontraron diferencias significativas ( $F [3,27]= 11.074$ ,  $p<0.05$ ), con la dosis más baja del antagonista WAY100135 (0.1 mg/kg) más la dosis fija del agonista 8-OH-DPAT (0.03 mg/kg) más la dosis fija de ANF (1.0 mg/kg), comparado con la prueba de ANF (1.0 mg/kg) (Figura 11).

Pruebas de combinación con diferentes dosis del agonista 8-OH-DPAT más una dosis fija de ANF

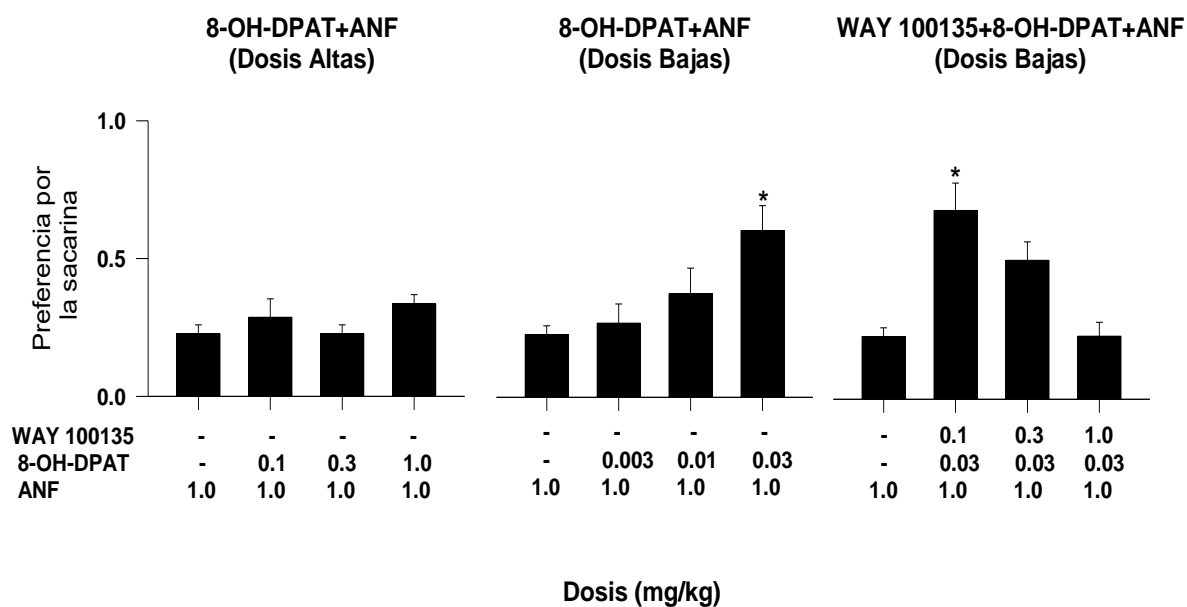


Figura 11. Resultados de las pruebas de combinación con diferentes fármacos y dosis. Se muestra la preferencia por la sacarina ( $\pm$ error estándar de la media), donde 0.0 indica una fuerte aversión a la sacarina y el 1.0 indica una preferencia por la sacarina. Los asteriscos indican diferencias significativas ANOVA de medidas repetidas, ( $p < 0.05$ ) con la dosis de entrenamiento de la ANF.



## Discusión y Conclusión

Los resultados anteriores mostraron que los animales aprendieron la discriminación ANF-salina en pocos ensayos. Estos datos son consistentes con estudios donde la ANF se utiliza como fármaco de entrenamiento en experimentos de discriminación de drogas utilizando el CAS (Miranda, Jiménez, Cedillo, Sandoval-Sánchez, Millán-Mejía, Sánchez-Castillo & Velázquez-Martínez, 2009; Miranda, Sandoval-Sánchez, Cedillo, Jiménez, Millán-Mejía, & Velázquez-Martínez, 2007).

Después de la adquisición de la discriminación ANF-salina, se procedió a realizar las pruebas de generalización. De acuerdo a diversos investigadores (Glennon, 1986; Schreiber, Brocco, Lefèbvre de Ladonchamps, Monneyron & Millan, 1995) cuando un fármaco de prueba produce el 80% o más de respuestas correctas, se dice que substituye totalmente al fármaco de entrenamiento. Si el fármaco de prueba produce menos del 80% pero igual o más del 40% de respuestas correctas, se dice que produce una substitución parcial. Finalmente, si el fármaco produce menos del 40% de respuestas correctas, se dice que no hay substitución. Con base en estos criterios, los resultados de este experimento mostraron que la ANF produjo una generalización dependiente de la dosis, con una dosis intermedia de 0.3 mg/kg que ocasionó una substitución parcial, mientras que la dosis de 1.0 mg/kg provocó una substitución total de la ANF. Ni las dosis altas ni bajas del agonista 8-OH-DPAT ni el antagonista WAY100135 substituyeron la señal discriminativa de la ANF.

Los resultados obtenidos durante las pruebas de combinación mostraron que la administración de dosis bajas de 8-OH-DPAT (0.003, 0.01 y 0.03 mg/kg) en combinación con ANF (1.0 mg/kg), disminuyó la señal discriminativa de la ANF de forma dependiente de la dosis. Además, la administración del antagonista WAY100635 previno este efecto, estos datos son consistentes con estudios anteriores donde reportaron que las dosis bajas de 8-OH-DPAT reducen los

comportamientos relacionados con la cocaína (Carey, et al., 2005). Asimismo, se ha reportado una disminución en la autoadministración de cocaína posterior al pretratamiento con el agonista 8-OH-DPAT (Peltier & Schenk, 1993). En otro estudio se encontró que los ratones que se autoadministraban cocaína, mostraron un efecto inhibitorio tras la administración del agonista 8-OH-DPAT (0.3 mg/kg) en un programa de razón progresiva (Parsons, Weiss & Koob, 1998)

Se ha reportado que la administración del agonista 8-OH-DPAT con dosis que estimulan a los autorreceptores somatodendríticos, bloquea las propiedades discriminativas de la metanfetamina (Sasaki, Tatham & Barrett, 1995), reduce la expresión de la sensibilización locomotora inducida por ANF (Przegaliński, Siwanowicz, Baran & Filip, 2000) e inhibe la hiperactividad inducida por cocaína (Przegaliński & Filip, 1997). Los hallazgos de estos experimentos podrían atribuirse a la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> somatodendríticos.

En contraste, en un estudio de discriminación de drogas los resultados mostraron que el 8-OH-DPAT (0.01-0.5mg/kg) no provocó generalización ni antagonizó los efectos de las propiedades discriminativas de la ANF (Young, Bondareva, Wesolowska & Glennon, 2006). Estos resultados son consistentes con estudios donde la administración de 8-OH-DPAT (0.125-1.6 mg/kg), buspirona (2.0-16 mg/kg) o gepirona (2.5-10.0 mg/kg) no sustituyeron la señal discriminativa de la cocaína en ratas (Callahan & Cunningham, 1995,1997; Przegalinski & Filip, 1997; Rapoza, 1993). Asimismo, se ha reportado que la administración de 0.1 mg/kg del agonista 8-OH-DPAT incrementa la actividad locomotora (Dourish, Hutson & Curzon, 1985a, 1985b; Jackson, Wallsten, Jerning, Hu & Deveney, 1998; Lucki, Ward & Frazer, 1989; Müller et al., 2007; Tricklebank, Middlemiss & Neill, 1986). Estos resultados podrían deberse a las dosis utilizadas y la posible activación de los receptores postsinápticos.

A pesar de que los resultados del Experimento 1 de la presente tesis apoyan la hipótesis de que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> juegan un papel importante en la

señal discriminativa de la ANF, existe investigación neuroquímica que muestra que la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> puede modular la liberación de dopamina en la región terminal del sistema mesolímbico (NAcc). Sin embargo, esto depende de si ambos receptores postsinápticos y somatodendríticos son estimulados o el estímulo se produce sólo en la región somatodendrítica (Haleem, 2013). En este sentido, es importante establecer una relación entre los resultados obtenidos en el experimento 1 y la liberación de dopamina en el NAcc posterior a la activación farmacológica de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>.

## EXPERIMENTO 2

### *Determinación de las concentraciones de DA en el Shell (caparazón o cubierta) del Nacc, posterior a la administración del agonista 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT*

En el Experimento 1 se demostró que la administración sistémica de una dosis baja del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, disminuye la señal discriminativa de la ANF. Como se mencionó, los efectos observados son compatibles con la hipótesis de que las dosis bajas de agonistas 5-HT<sub>1A</sub> activan preferencialmente a los autorreceptores somatodendríticos de las neuronas serotoninérgicas del rafe y como consecuencia se produce una disminución de la dopamina mesolímbica (esencial en los efectos conductuales de los psicoestimulantes). El experimento 2 fue diseñado para establecer una relación entre los efectos observados en el experimento 1 y los cambios en las concentraciones de DA en el NAcc, para lo cual se evaluó el efecto de la administración sistémica de una dosis baja o alta del agonista 8-OH-DPAT (0.03 y 1.0 mg/kg) y del antagonista WAY100135 (1.0 mg/kg) sobre las concentraciones de DA extracelulares en el *Shell* del NAcc por medio de la microdiálisis cerebral. Esta técnica permite estimar con precisión la concentración de neurotransmisores y sus metabolitos para estudiar los cambios inducidos en ellos después de administrar un fármaco, el cual puede administrarse a través de la sonda de diálisis o por vía sistémica, encontrándose el animal vivo, consciente y en libre movimiento.

## Método

### *Sujetos, aparatos y materiales*

- Los señalados en el método general.

*Fármacos:* Se utilizaron 8-OH-DPAT y WAY100135. Los fármacos fueron disueltos en solución salina, de acuerdo a lo planteado en el método general.

*Procedimiento:* Se administraron vía intraperitoneal diversos tratamientos a los grupos especificados en la Tabla 2: con solución salina, 8-OH-DPAT (dosis baja: 0.03 mg/kg o dosis alta: 1.0 mg/kg), WAY100135 (1.0 mg/kg) o la administración del agonista 8-OH-DPAT (dosis baja: 0.03 mg/kg o dosis alta: 1.0 mg/kg) + el antagonista WAY100135 (1.0 mg/kg). Previo a la administración intraperitoneal correspondiente (solución salina, 8-OH-DPAT, 8-OH-DPAT + WAY 100625 o WAY 100635) de acuerdo a lo planteado en el método general.

**Tabla 2**

**Diseño Experimental Microdiálisis**

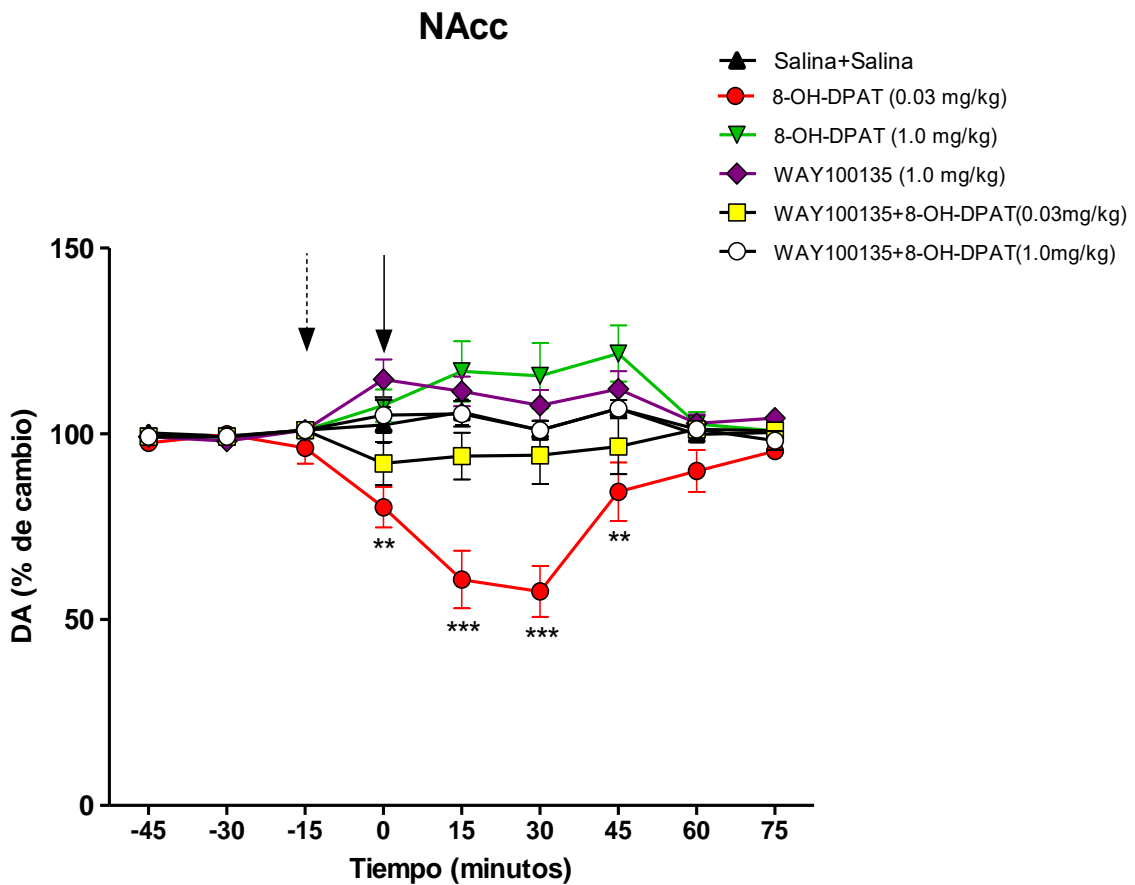
<b>Nombre de los grupos</b>	<b>Tratamiento mediante administraciones sistémicas</b>	<b>Cuantificación</b>
SAL	Salina+Salina	Concentración de DA en el Nacc
8-OH-DPAT0.3	8-OH-DPAT (0.03)	
8-OH-DPAT1	8-OH-DPAT (1.0)	
WAY1	WAY100135 (1.0)	
WAY1+8-OH-DPAT.03	WAY100135 (1.0)+8-OH-DPAT (0.03)	
WAY1+8-OH-DPAT.01	WAY100135 (1.0)+8-OH-DPAT(1.0)	

Las dosis entre paréntesis se expresan en mg/kg; i.p. (para todos los grupos  $n=5$ )

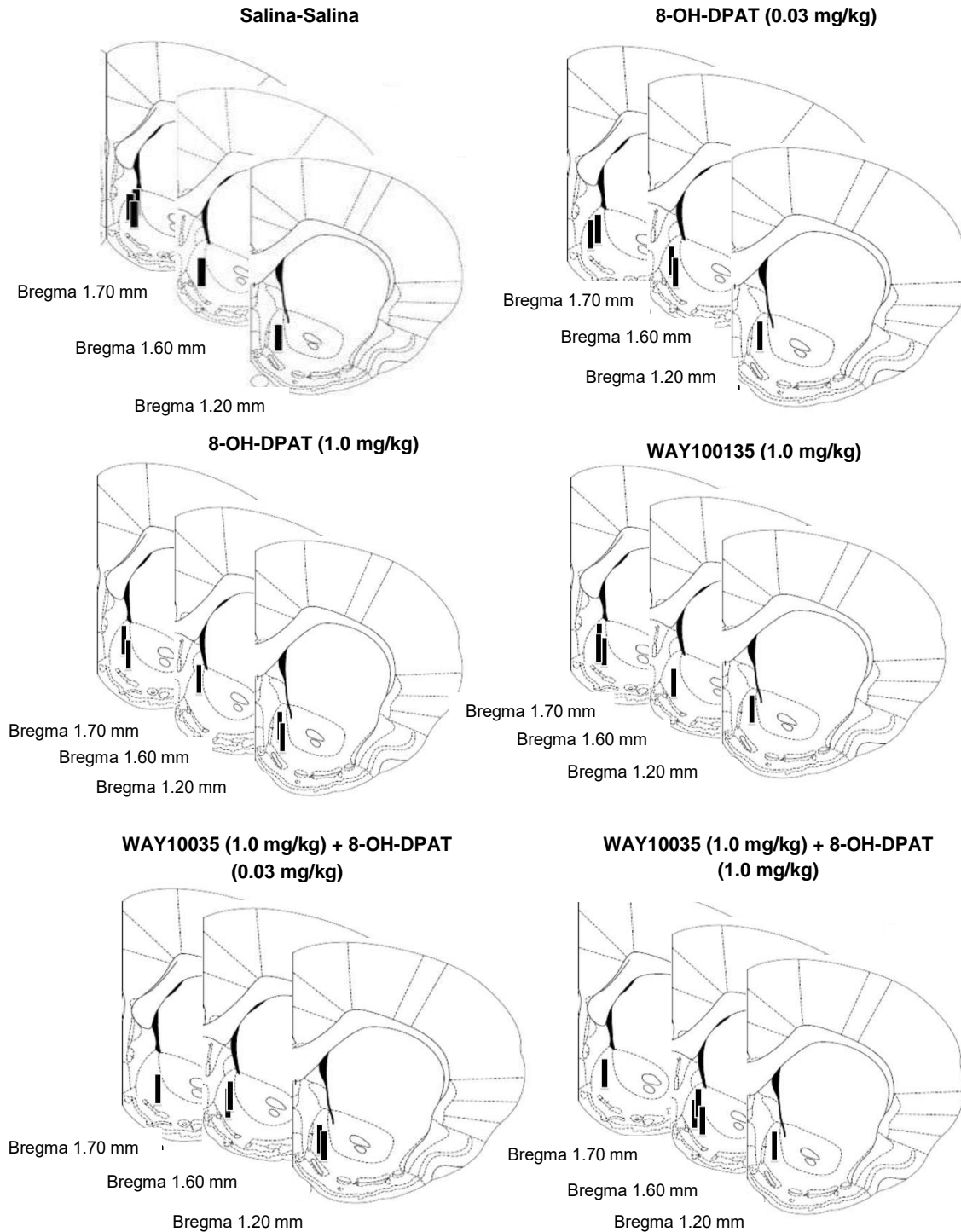
## Resultados

El curso temporal de los cambios en la concentración basal de DA en el *shell* del NAcc producidos por la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> se muestra en la Figura 12 y se expresan en términos de porcentaje de cambio. El análisis de los resultados indicó que no hay diferencias significativas en los niveles basales de DA en el *shell* del NAcc entre los distintos grupos, ( $F [8, 192]= 1.79, p>0.05$ ). Por otro lado, un ANOVA de medidas repetidas de dos factores reveló que después de los tratamientos farmacológicos, las concentraciones de DA cambiaron significativamente entre los distintos grupos, ( $F [5,192]= 36.11 p<0.0001$ ), además de que se detectó una interacción significativa tratamiento x tiempo ( $F [40,192]= 4.39, p<0.0001$ ). El análisis *post hoc* de Tukey mostró una disminución significativa de los niveles de DA, desde el minuto 15 y hasta el minuto 45 ( $p<0.01$ ) en el *shell* del NAcc en respuesta a la dosis baja de 8-OH-DPAT (0.03 mg/kg). Sin embargo, la dosis alta de 8-OH-DAPT (1.0 mg/kg), no produjo un cambio estadísticamente significativo. La administración del antagonista WAY100135 (1.0 mg/kg) previno los efectos observados del 8-OH-DPAT con la dosis baja, manteniendo las concentraciones de DA similares al grupo salina. Por otra parte, la administración del antagonista WAY100135 (1.0 mg/kg) *per se* no produjo cambios estadísticamente significativos en las concentraciones de DA. Para el análisis de datos únicamente se tomaron en cuenta las cánulas que se encontraban localizadas en el *shell* del NAcc (Figura 13).

*Determinación de las concentraciones de DA en el Shell del NAcc posterior a la administración del agonista 8-OH-DPAT*



*Figura 12.* Efecto de la administración intraperitoneal del agonista 8-OH-DPAT y el antagonista WAY100135 sobre las concentraciones extracelulares de DA en el *shell* del NAcc. Datos expresados en términos de porcentaje de cambio de la concentración basal de DA ( $\pm$  error estándar de la media). La flecha punteada indica la administración i.p. de solución salina o WAY100135 previo a una segunda administración de solución salina ó de 8-OH-DPAT. La flecha continua indica la administración de solución salina, 8-OH-DAPT ó WAY100135 según el grupo correspondiente. \*\* $p < 0.01$  vs grupo Salina + Salina; \*\*\*  $p < 0.001$  vs grupo Salina + Salina.



*Figura 13.* Diagramas de secciones coronales según el atlas de Paxinos y Watson (2007) de ratas canuladas en el *shell* del Nacc. Las barras en negro representan la ubicación de las cánulas de microdiálisis en el *shell* del NAcc correspondientes a los animales que fueron incluidos en el análisis estadístico para todos los experimentos.



## Discusión y Conclusión

Los resultados de este experimento sustentan la idea de que la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> presinápticos de las neuronas serotoninérgicas del núcleo del rafe modulan la actividad dopaminérgica del NAcc, esta modulación podría deberse en primer lugar a que la disminución de la actividad serotoninérgica vía receptores 5-HT<sub>1A</sub> tiene un efecto sobre la actividad de los receptores 5-HT<sub>1B</sub> localizados en las terminales de las interneuronas GABAérgicas del ATV, incrementando las concentraciones de GABA en dicha región. De ser cierto este posible mecanismo, podría ayudar a explicar el resultado de la disminución de la concentración extracelular de DA en el *shell* del NAcc.

Estos resultados son compatibles con estudios previos donde la inhibición directa de neuronas serotoninérgicas del núcleo del rafe con la microinyección de 8-OH-DPAT (1.0 y 2.0 µg) produjo una disminución del 25% de DA en el NAcc (Yoshimoto & McBride, 1992), en otros estudios con microdiálisis, la administración sistémica de 8-OH-DPAT (25, 50 y 100 mg/kg s.c.) previa a la administración de ANF (1.0 mg/kg s.c.) inhibió el incremento de DA extracelular en el NAcc, y este efecto fue prevenido por la administración del antagonista WAY100635 (Ichikawa, Kuroki, Kitchen & Meltzer, 1995; Ichikawa & Meltzer, 2000), mientras que una dosis alta de R(+)-8-OH-DPAT no afectó las concentraciones basales de DA en el NAcc (Ichikawa & Meltzer, 1999).

Por esta razón, es importante realizar un experimento adicional que permita medir los cambios en las concentraciones de GABA en el ATV posterior a la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y de esta forma sustentar la hipótesis planteada.

### EXPERIMENTO 3

#### *Determinación de las concentraciones de GABA en el ATV, posterior a la administración del agonista 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT*

En el Experimento 2 se mostró que la administración de una dosis baja de 8-OH-DPAT disminuyó las concentraciones de DA en el *shell* del NAcc, estos resultados son compatibles con la idea de que la activación de los autorreceptores somatodendríticos 5-HT<sub>1A</sub> del núcleo del rafe, disminuyen la actividad serotoninérgica y producen un decremento en la función de los receptores 5-HT<sub>1B</sub> (localizados en las terminales de las interneuronas GABAérgicas del ATV), disminuyendo la inhibición serotoninérgica de la liberación de GABA en el ATV mediada por receptores 5-HT<sub>1B</sub> presinápticos, incrementando así la concentración de GABA en el ATV. De ser esto cierto, se podría explicar la hiperpolarización de neuronas dopaminérgicas de este núcleo y la consecuente disminución de DA en el *shell* del NAcc. De tal forma, el presente experimento se diseñó para determinar si la activación sistémica de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> produce incremento de la concentración de GABA en el ATV. Así, se evaluó el efecto de las administraciones sistémicas del agonista 8-OH-DPAT (0.03 y 1.0 mg/kg) y/o el antagonista WAY100135 (1.0 mg/kg), sobre los contenidos extracelulares de GABA en el ATV a través de los dializados colectados mediante la técnica de microdialisis.

### Método

#### *Sujetos, aparatos y materiales*

- Los señalados en el método general.

*Fármacos:* Se utilizaron 8-OH-DPAT y WAY100135. Los fármacos fueron disueltos en solución salina, de acuerdo a lo planteado en el método general.

*Procedimiento:* En otro grupo de animales, se administró (i.p) solución salina, 8-OH-DPAT (dosis baja: 0.03 mg/kg o dosis alta: 1.0 mg/kg), WAY100135 (1.0 mg/kg) o la administración del agonista 8-OH-DPAT (dosis baja: 0.03 mg/kg o dosis alta: 1.0 mg/kg) + el antagonista WAY100135 (1.0 mg/kg), tal como se especifica en la Tabla 3. Previo a la administración intraperitoneal correspondiente (solución salina, 8-OH-DPAT, 8-OH-DPAT + WAY 100625 ó WAY 100635), se permitió la estabilización de los niveles de GABA en el ATV (durante 2 horas después de la inserción de la cánula de microdialisis) y, posteriormente, se calculó la concentración basal de GABA, promediando el contenido de tres dializados consecutivos. Después de la administración intraperitoneal, se colectaron seis muestras más de dializado, se calcularon las concentraciones de GABA de éstas muestras y fueron comparadas con la concentración basal (promedio de las tres muestras previas a las inyecciones intraperitoneales), los datos se expresan en términos de porcentaje de cambio, respecto a la concentración basal de GABA, que constituyó el 100%.

**Tabla 3**

**Diseño Experimental Microdialisis**

Nombre de los grupos	Tratamiento mediante administraciones sistémicas	Cuantificación
SAL	Salina+Salina	Concentración de GABA en el ATV
8-OH-DPAT0.3	8-OH-DPAT (0.03)	
8-OH-DPAT1	8-OH-DPAT (1.0)	
WAY1	WAY100135 (1.0)	
WAY1+8-OH-DPAT.03	WAY100135 (1.0)+8-OH-DPAT (0.03)	
WAY1+8-OH-DPAT.01	WAY100135 (1.0)+8-OH-DPAT(1.0)	

Las dosis administradas están expresadas en mg/kg, i.p. (para todos los grupos  $n=5$ )

## Resultados

El análisis de resultados indicó que no hubo diferencias significativas en los niveles basales de GABA del ATV entre los distintos grupos, ( $F [8, 192]= 6.78$ ,  $p>0.05$ ). Por otro lado, un ANOVA de medidas repetidas de dos factores reveló que después de los tratamientos farmacológicos, las concentraciones de GABA cambiaron significativamente entre los distintos grupos, ( $F [5, 192]= 13.16$ ,  $p<0.05$ ), además de que se detectó una interacción tratamiento y tiempo significativa ( $F (40, 192)= 8.51$ ,  $p<0.05$ ). El análisis *post hoc* de Tukey mostró un aumento significativo de los niveles de GABA en el ATV, a partir del minuto 0 permaneciendo hasta el minuto 45 ( $p<0.05$ ) cuando se administró la dosis baja de 8-OH-DPAT (0.03 mg/kg), en comparación con el grupo salina, no así cuando se administró la dosis alta de 8-OH-DAPT (1.0 mg/kg). La administración del antagonista WAY100135 (1.0 mg/kg) bloqueó el efecto de la administración de la dosis baja de 8-OH-DPAT, manteniendo las concentraciones de GABA similares al grupo salina. Por su parte, la administración del antagonista WAY100135 (1.0 mg/kg) *per se* no produjo cambios estadísticamente significativos en las concentraciones de GABA (Figura 14). Para el análisis de los datos únicamente se tomaron en cuenta las cánulas que se encontraban en el ATV (Figura 15).

*Determinación de las concentraciones de GABA en el ATV, posterior a la administración del agonista 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT*

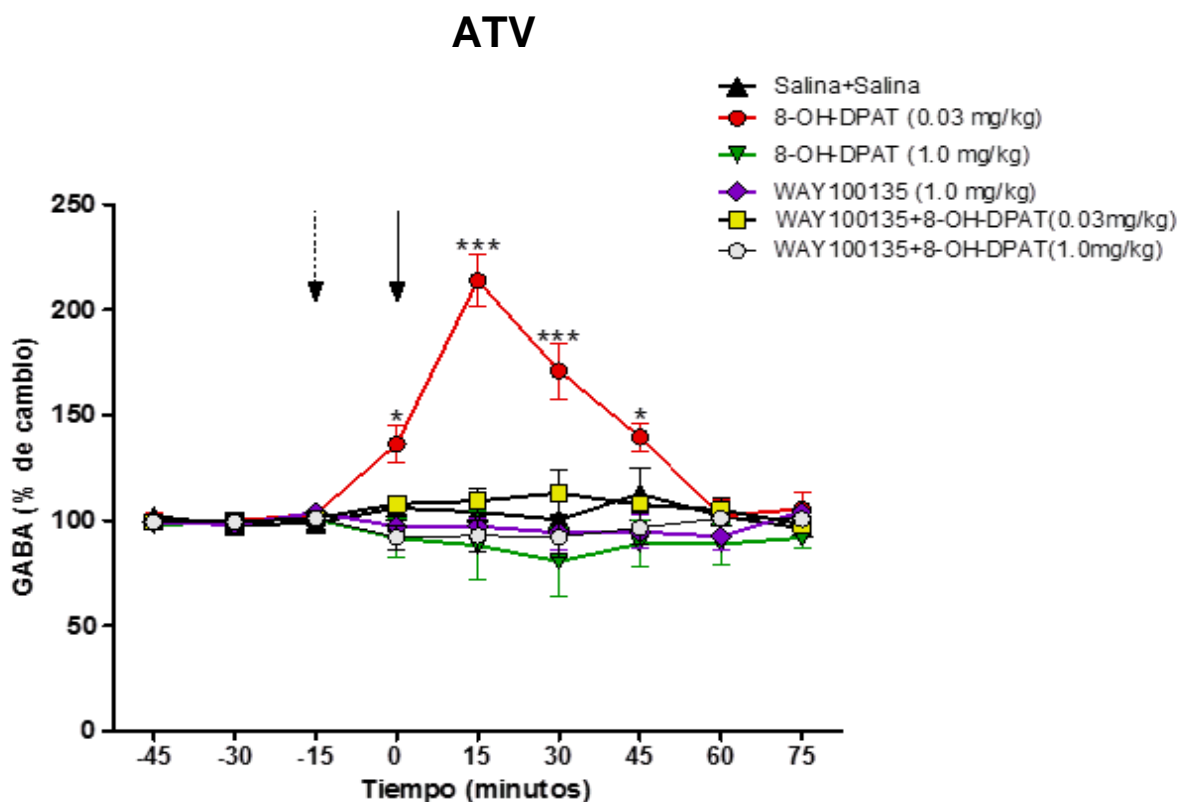


Figura 14. Efectos de la administración intraperitoneal del agonista 8-OH-DPAT y el antagonista WAY100135 sobre los niveles de GABA en el ATV. En la figura se muestran los niveles de GABA ( $\pm$  error estándar de la media) expresados como el porcentaje de cambio respecto a la concentración basal de GABA. Los asteriscos indican diferencias significativas con respecto al grupo Salina + Salina ( $*p < 0.05$ ). La flecha punteada indica la administración i.p. de solución salina o WAY100135 previo a una segunda administración de solución salina ó de 8-OH-DPAT. La flecha continua indica la administración de solución salina, 8-OH-DPAT o WAY100135 según el grupo correspondiente.

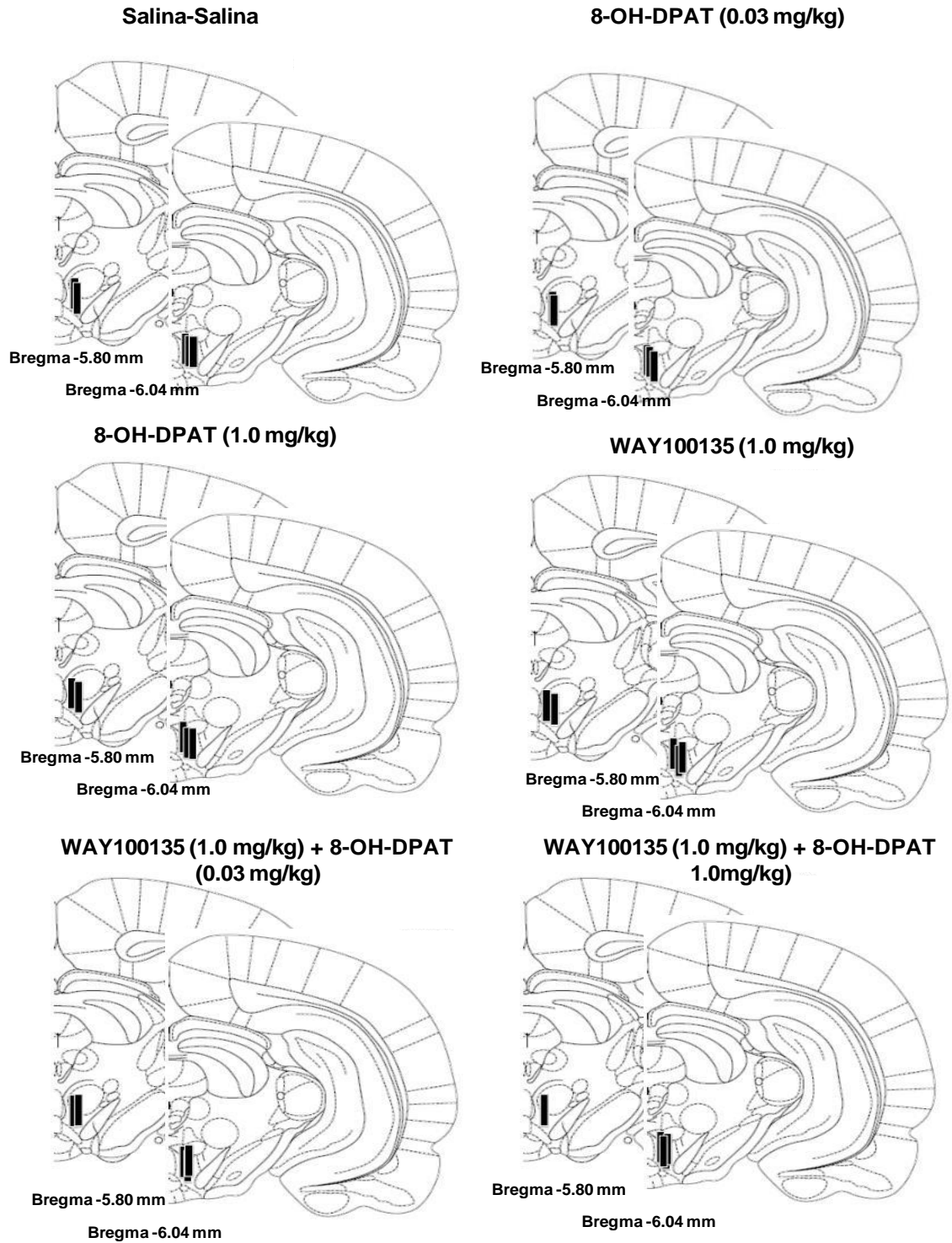


Figura 15. Diagramas de secciones coronales según el atlas de Paxinos y Watson (2007) de ratas canuladas en el ATV. Las barras en negro representan la ubicación de las cánulas de microdiálisis en el ATV correspondientes a los animales que fueron incluidos en el análisis estadístico para todos los experimentos.

## Discusión y Conclusión

Los resultados obtenidos en este experimento demostraron que la administración sistémica de la dosis baja de 8-OH-DPAT (0.03 mg/kg) aumenta las concentraciones de GABA en el ATV y la administración previa del antagonista WAY100135 es capaz de prevenir este efecto, estos datos sugieren que la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> disminuyen la actividad serotoninérgica, disminuyendo en consecuencia la activación de los receptores 5-HT<sub>1B</sub>, lo que produce desinhibición de las interneuronas GABAérgicas del ATV, lo que incrementa las concentraciones de GABA en dicha región. Lo anterior podría ayudar a explicar la disminución de la concentración extracelular de DA en el *shell* del NAcc observada en el Experimento 2. Por otra parte, la administración de una dosis alta del agonista 8-OH-DPAT no mostró tener algún efecto sobre las concentraciones de GABA en el ATV, sugiriendo que éste efecto es mediado por los receptores 5-HT<sub>1A</sub> presinápticos.

La evidencia sugiere que los receptores 5-HT<sub>1B</sub> se localizan con una densidad moderada en el ATV, en gran proporción están localizados como heterorreceptores en las terminales presinápticas de las interneuronas GABAérgicas que hacen sinapsis con neuronas dopaminérgicas (Bruinvels et al., 1994). La activación de heterorreceptores 5-HT<sub>1B</sub> en el ATV reduce la liberación de GABA en las neuronas dopaminérgicas en ATV resultantes en su desinhibición, y por consiguiente, el aumento de la liberación de DA en NAcc (Guan & McBride, 1989). En apoyo a esta sugerencia, se ha reportado que la administración de agonistas 5-HT<sub>1B</sub>, CP93129 o RU24969 inhibe la liberación de GABA del ATV y este efecto es prevenido por el pretratamiento con el antagonista SB216641 (Yan & Yan, 2001b). También, se ha demostrado que la administración intra-ATV de CP93129 incrementa los niveles de DA del NAcc inducidos por cocaína (O'Dell & Parsons, 2004). Adicionalmente, en estudios de comportamiento la administración sistémica del agonista selectivo a receptores 5-HT<sub>1B</sub>, CP94253 no sustituyó la señal discriminativa de la ANF, sin embargo, la administración combinada de

CP94253 más una dosis de 0.3 mg/kg de ANF aumentó la señal discriminativa de ANF y este efecto fue bloqueado por la administración sistémica del agonista GR127935 (Miranda et al., 2007).

Estos datos en conjunto sugieren que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> controlan la liberación de serotonina y como consecuencia la actividad de los receptores 5-HT<sub>1B</sub> del ATV, lo que explica claramente los efectos sobre la liberación de DA del NAcc.



## EXPERIMENTO 4

### *Evaluación de la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y el bloqueo de los receptores GABA<sub>A</sub> en la señal discriminativa de la ANF*

Los resultados del Experimento 1 mostraron que una dosis baja (0.03 mg/kg) del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, atenuó las propiedades discriminativas de la ANF. Estos datos son consistentes con los resultados obtenidos en el Experimento 2 en el cual se demostró que la administración sistémica de una dosis baja de 8-OH-DPAT disminuyó las concentraciones de DA en el *shell* del NAcc, este efecto puede ser explicado a partir de los resultados obtenidos en el Experimento 3 donde se comprobó que la administración de una dosis baja de 8-OH-DPAT aumentó las concentraciones de GABA en el ATV lo que explicaría la disminución en las concentraciones de DA en el *shell* del NAcc.

El efecto principal del Experimento 1, podría deberse a varias causas. En primer lugar, el control de la actividad de las neuronas dopaminérgicas del ATV está regulado por las interneuronas GABAérgicas del ATV a través de los receptores GABA<sub>A</sub> localizados en los cuerpos celulares de las neuronas dopaminérgicas del ATV (Creed, Ntamati & Tan, 2014). Segundo, las neuronas serotoninérgicas provenientes del núcleo del rafe proyectan al sistema de la recompensa (ATV y NAcc), modulando la actividad del sistema mesolímbico de la DA por medio de la activación de varios receptores, entre ellos los receptores 5-HT<sub>1B</sub>, localizados en las terminales presinápticas de las interneuronas GABAérgicas del ATV (Bruinvels et al., 1994). La activación de estos últimos produce un efecto inhibitorio sobre la liberación de GABA, desinhibiendo a las neuronas dopaminérgicas del ATV (Yan, Zheng, Feng & Yan, 2005). En este sentido, la administración del agonista 8-OH-DPAT, que activa los receptores somatodendríticos del núcleo del rafe (Carey et al., 2005), disminuye la actividad de las neuronas serotoninérgicas que proyectan hacia las interneuronas GABAérgicas del ATV (Hervé, Pickel, Joh & Beaudet, 1987; Van Bockstaele, Cestari & Pickel, 1994) y, como consecuencia, disminuye la actividad de los

receptores 5-HT<sub>1B</sub> localizados en las terminales presinápticas de las interneuronas GABAérgicas (Yan, Zheng & Yan, 2004), incrementando los niveles de GABA en ATV y disminuyendo los niveles de DA en NAcc (O'Dell Parsons, 2004; Yan & Yan, 2001a,b). Si esta sugerencia es cierta, entonces el efecto observado en el Experimento 1, podría prevenirse si se bloquean los receptores GABA<sub>A</sub> localizados en el soma de las neuronas dopaminérgicas del ATV mediante la administración de un antagonista selectivo de los receptores GABA<sub>A</sub>. Por lo tanto, el presente experimento estuvo orientado a examinar los efectos producidos por la administración sistémica de un antagonista GABA<sub>A</sub>, la bicuculina, sobre los efectos del 8-OH-DPAT en las propiedades discriminativas de la ANF, utilizando el CAS como procedimiento de discriminación de drogas.

## **Método**

### *Sujetos, aparatos y materiales*

- Los señalados en el método general.

*Fármacos:* Se utilizaron sulfato *d*-anfetamina, clorhidrato de muscimol y bicuculina. Todos los fármacos fueron disueltos según se describió en el método general.

*Procedimiento:* Se entrenó a un grupo de ratas ( $n=10$ ) a discriminar ANF de salina, la administración de ANF fue seguida de los apareamientos sacarina-LiCl, mientras que la administración de salina precedió a los apareamientos de sacarina-salina. Después se llevaron a cabo las pruebas de generalización y combinación como se describió en el método general de discriminación de drogas (Tabla 4).

**Tabla 4****Diseño Experimental de Discriminación de Drogas**

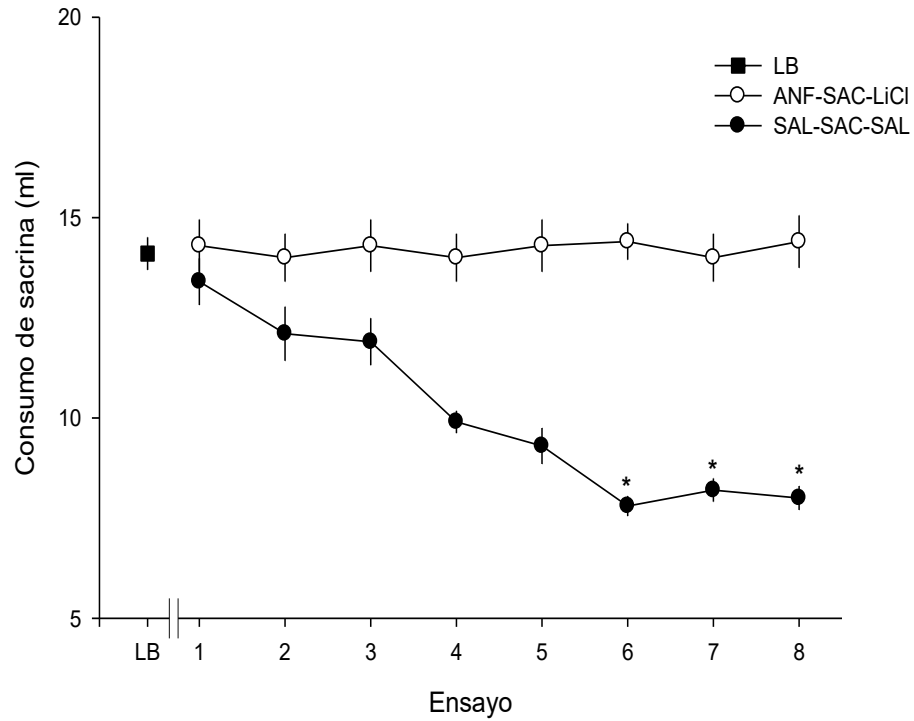
ENSAYO	PROCEDIMIENTO	PRUEBAS DE SUBSTITUCIÓN Y COMBINACIÓN	
		COMPUESTOS	PRUEBA DE ELECCIÓN
DROGA	ANF-Sacarina-LiCl	ANF (0.1, 0.3 y 1.0)	Agua-Sacarina
SALINA	Salina-Sacarina-Salina	Muscimol (0.1, 0.3, 1.0 y 1.5)	Agua-Sacarina
		Bicuculina (0.5, 1.0 y 3.0)	Agua-Sacarina
		Muscimol (0.1, 0.03 y 1.0)+ANF (1.0)	Agua-Sacarina
		Bicuculina (3.0)+8-OH-DPAT (0.03)+ANF	Agua-Sacarina

Las dosis entre paréntesis se expresan en mg/kg; i.p. ( $n=10$ ).

**Resultados**

*Adquisición de la discriminación ANF-salina:* La porción superior de la Figura 16 muestra el consumo de sacarina durante los ensayos droga y salina. El consumo de sacarina durante la línea base, el primer ensayo droga y el primer ensayo salina fue muy similar, ( $F [2,27]= 0.494, p>0.05$ ). Durante los ensayos en que se administró la ANF seguida por los apareamientos SAC-LiCl se produjo una reducción del consumo de sacarina. El ANOVA factorial de medidas repetidas mostró diferencias significativas al comparar el consumo de la sacarina en los últimos tres ensayos droga con el consumo de los tres últimos ensayos salina, ( $F [1,9]= 196.216, p<0.05$ ). Éstas diferencias se debieron al efecto de la condición (ensayo droga y ensayo salina), ya que el número de ensayo no influyó en el consumo de la sacarina, ( $F [2,18]= 0.174, p>0.05$ ), y no hubo interacción entre los factores número de ensayo y tipo de ensayo (ensayo-droga/ensayo-salina) ( $F [2,18]= 0.884, p>0.05$ ).

## Adquisición de la discriminación ANF- Salina



*Figura 16.* Adquisición de la discriminación ANF-Salina utilizando el CAS como procedimiento de discriminación de drogas. Los círculos indican el promedio del consumo de sacarina ( $\pm$ error estándar de la media). LB=línea base. Los asteriscos indican diferencias significativas con los ensayos salina ( $p < 0.05$ , Tukey).

*Pruebas de generalización con ANF:* Con el objetivo de determinar si el control discriminativo de la ANF está en función de la dosis de entrenamiento, este experimento evaluó el control discriminativo de diferentes dosis de ANF en pruebas de generalización (Figura 17). Los resultados de las pruebas de generalización con diferentes dosis de ANF, muestran que la dosis más alta de ANF (1.0 mg/kg) produce una señal discriminativa similar a la producida durante la prueba de generalización con la dosis de entrenamiento de la ANF (1.0 mg/kg). El ANOVA de medidas repetidas simple reveló un efecto significativo en la condición de tratamiento, la prueba *post hoc* Tukey reveló diferencias significativas entre el tratamiento con solución salina, las dosis de 0.1 y 0.3 mg/kg de ANF comparado con la dosis de entrenamiento de ANF, ( $F [4,45]= 21.214, p<0.05$ ).

*Pruebas de generalización con ligandos a receptores GABA<sub>A</sub>:* Se evaluaron diferentes dosis del agonista a receptores GABA<sub>A</sub> muscimol (0.1, 0.03, 1.0 y 1.5 mg/kg) y del antagonista bicuculina (0.5, 1.0 y 3.0 mg/kg). Los resultados de estas pruebas mostraron que ninguno de estos compuestos sustituyó la señal discriminativa de la ANF. Un ANOVA de medidas repetidas de una vía reveló diferencias significativas para el muscimol ( $F [5,54]= 103.610, p<0.05$ ) y para la bicuculina ( $F [4,45]= 38.539, p<0.05$ ). Las pruebas posteriores de Tukey revelaron que la preferencia por la sacarina en todas las dosis de muscimol y bicuculina fue significativamente diferente a la observada con la dosis de entrenamiento de ANF (Figura 17).

*Consumo de líquidos en las pruebas de generalización:* Como se describió en el método general en todas las pruebas de generalización se midió el consumo total de líquidos, para evaluar si la administración de los fármacos producía adiposidad, o algún otro efecto que pudiera enmascarar los resultados de la investigación. Un ANOVA simple mostró que el consumo de líquidos no se afectó por la administración de ANF, ( $F [4,45]= 2.853, p>=0.05$ ) ó bicuculina, ( $F [4,45]= 0.980, p>0.05$ ), sin embargo, en el caso del muscimol el ANOVA simple mostró diferencias significativas y la prueba *post hoc* reveló que la dosis más alta (1.5 mg/kg) afectó el consumo de líquidos, por lo tanto no se consideró para pruebas posteriores ( $F ([5,54])= 37.820, p<0.05$ ) (Figura 17, panel inferior).

Pruebas de generalización con ANF y ligandos a receptores GABA<sub>A</sub>

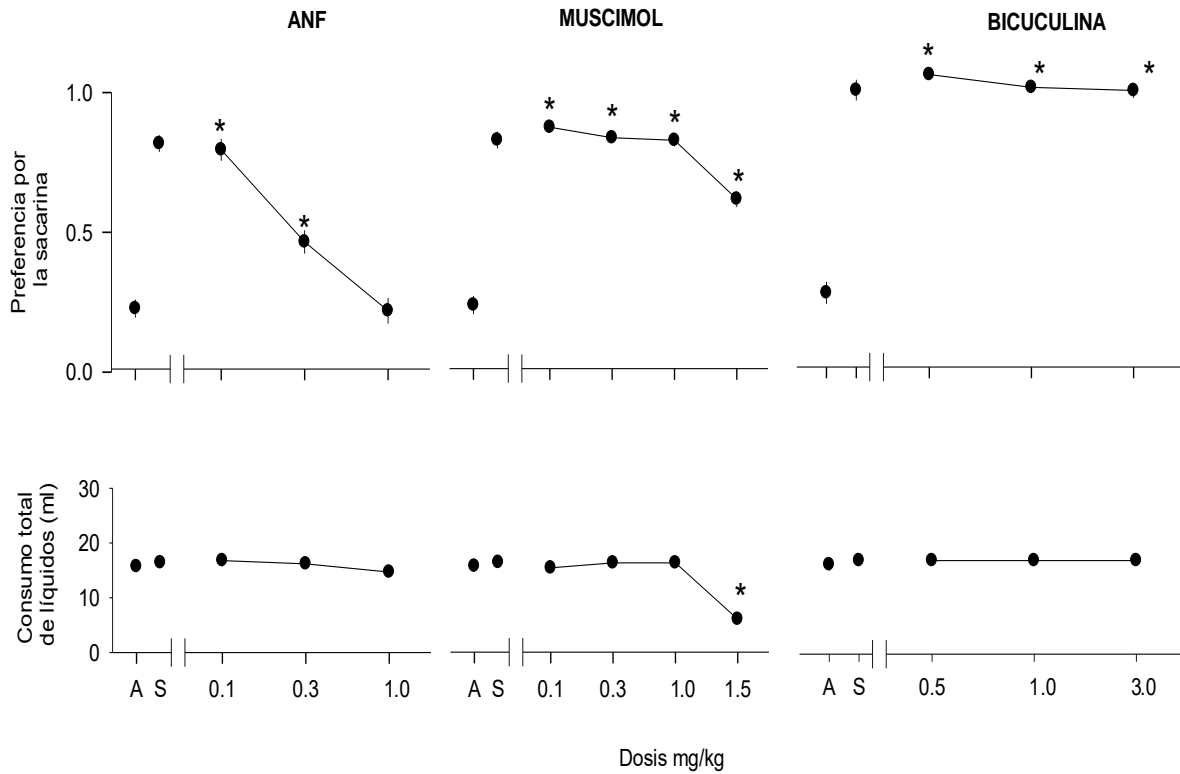
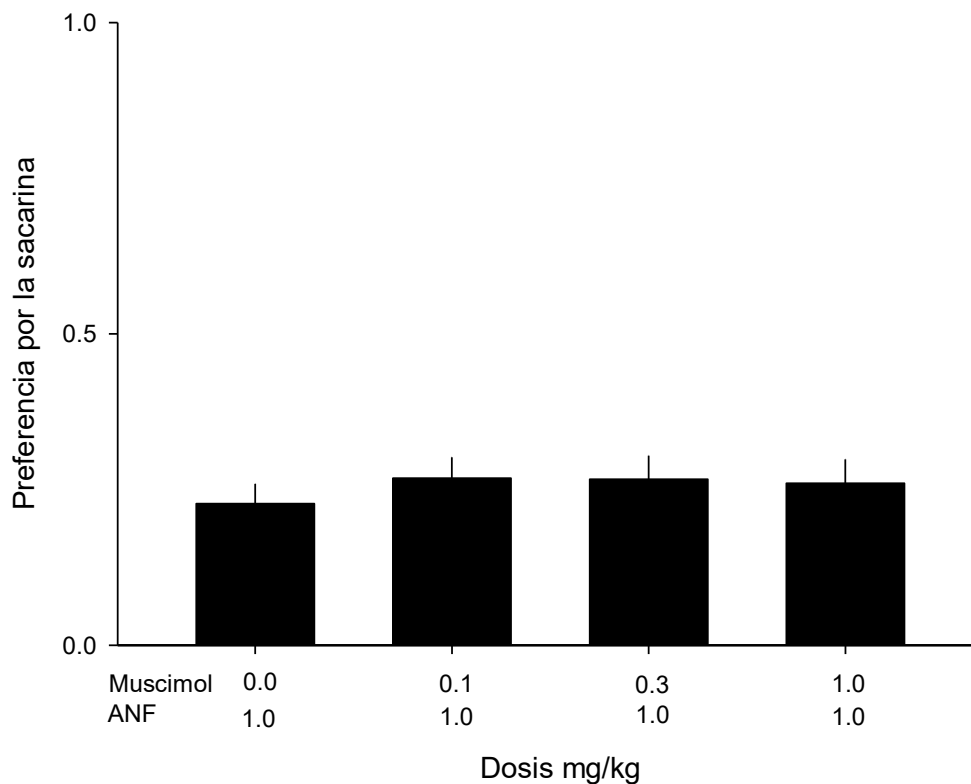


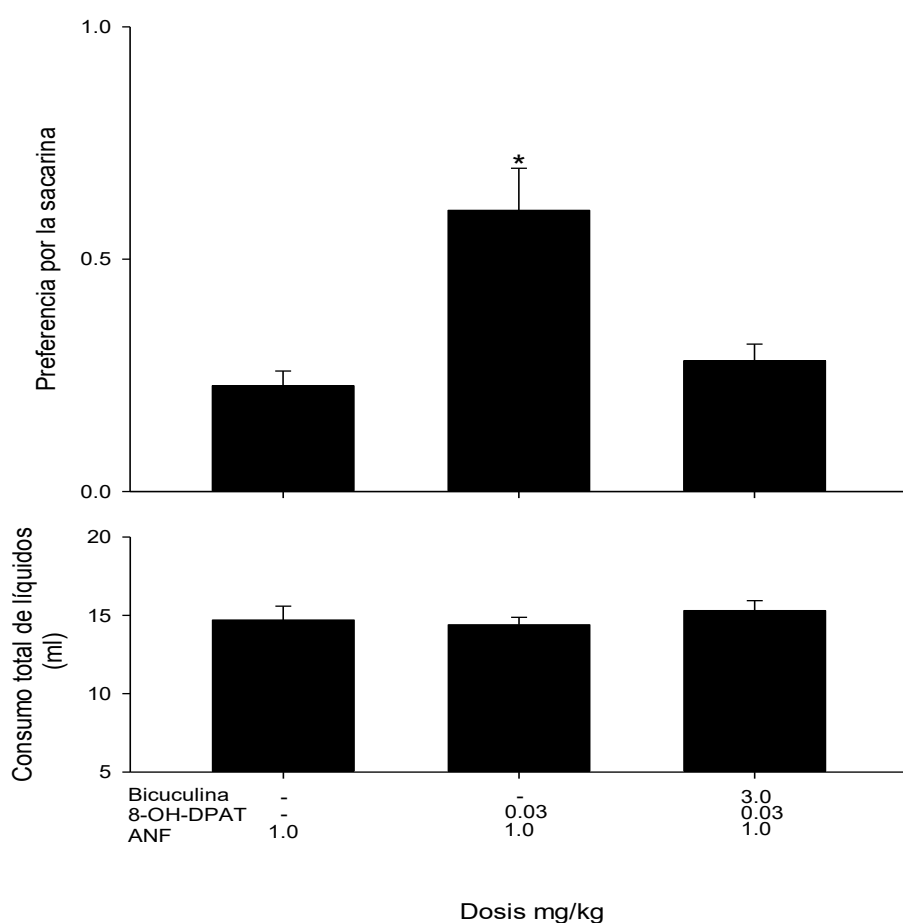
Figura 17. Resultados de las pruebas de sustitución con diferentes dosis de ANF (0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg), muscimol (0.1, 0.3, 1.0 y 1.5 mg/kg) y bicuculina (0.5, 1.0 y 3.0 mg/kg). Se muestra la preferencia por la sacarina (0.0 indica una fuerte aversión a la sacarina y el 1.0 indica una preferencia por la sacarina). Los asteriscos indican diferencias significativas, (Prueba Tukey  $p < 0.05$ ) con la dosis de entrenamiento de ANF. La gráfica del panel inferior indica el consumo total de líquidos.

*Pruebas de combinación con ligandos a receptores GABA<sub>A</sub> más una dosis fija de ANF:* En las pruebas de combinación donde se evaluaron diferentes dosis del agonista a receptores GABA<sub>A</sub> muscimol (0.1, 0.3 y 1.0 mg/kg), en combinación con una dosis fija de ANF (1.0 mg/kg), no se encontraron diferencias significativas en la preferencia por la sacarina ( $F[3,39]= 0.153, p>0.05$ ) (Figura 18).



*Figura 18.* Preferencia por la sacarina durante las pruebas de combinación con ligandos a receptores GABA<sub>A</sub> más ANF, en ratas entrenadas a discriminar ANF (1.0mg/kg) de salina, las barras representan el promedio de las 10 ratas  $\pm$  el error estándar de la media.

*Pruebas de combinación de ligandos a GABA<sub>A</sub> y 5-HT<sub>1A</sub> más una dosis de ANF:* Los resultados de las pruebas de combinación se muestran en la Figura 19. Se evaluó la administración del antagonista a receptores GABA<sub>A</sub> bicuculina (3.0 mg/kg) más el agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT (0.3 mg/kg) más una dosis fija de ANF (1.0 mg/kg), el ANOVA de medidas repetidas de una vía reveló diferencias significativas ( $F [2,29]= 12.173, p<0.05$ ); la prueba *post-hoc* Tukey reveló diferencias significativas entre la administración del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub> 8-OH-DPAT (0.3 mg/kg) más una dosis fija de ANF (1.0 mg/kg), respecto a la dosis de entrenamiento de ANF.



*Figura 19.* Resultados de las pruebas de combinación con una dosis de bicuculina (3.0 mg/kg) más una dosis de 8-OH-DPAT más una dosis fija de ANF. Las barras indican la media  $\pm$  el error estándar de la media, de 10 ratas. Se muestra la preferencia por la sacarina (0.0 indica una fuerte aversión a la sacarina y el 1.0 indica una preferencia por la sacarina). El asterisco indica diferencias significativas (Tukey,  $p<0.05$ ) con la dosis de entrenamiento de la ANF.



## Discusión y Conclusión

El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto del bloqueo de los receptores GABA<sub>A</sub> y la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en la señal discriminativa de la ANF, utilizando el CAS como procedimiento de discriminación de drogas. Al realizar las pruebas de sustitución con diferentes dosis de ANF se observó una sustitución dependiente de la dosis. En el caso de las pruebas de generalización, ni el agonista a receptores GABA<sub>A</sub> muscimol ni el antagonista bicuculina, sustituyeron la señal discriminativa de la ANF. Es importante mencionar que la dosis del agonista a receptores GABA<sub>A</sub> muscimol (1.5 mg/kg), produjo una disminución en el consumo de líquidos, estos resultados son consistentes con estudios previos que reportaron que dosis altas de muscimol (3.2 mg/kg), produjeron efectos adversos como toxicidad en monos entrenados a discriminar ANF de cocaína (Negus, Mello & Fivel, 2000).

Por otro lado, en las pruebas de combinación donde se administraron diferentes dosis del agonista a receptores GABA<sub>A</sub> muscimol más una dosis fija de ANF, no se observó una alteración en la señal discriminativa de la ANF, estos datos son consistentes con los reportados previamente donde el muscimol no produjo un decremento en la autoadministración de cocaína (Barret, Negus, Mello & Caine, 2005).

Sin embargo, un aspecto muy interesante es que la administración del antagonista a receptores GABA<sub>A</sub> bicuculina (3.0 mg/kg), previa a la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> con el agonista 8-OH-DPAT (0.03 mg/kg) más una dosis fija de ANF (1.0 mg/kg), previno el efecto sobre la señal discriminativa de la ANF.

En este sentido, existe evidencia experimental de que los receptores GABA<sub>A</sub> se encuentran expresados en neuronas del ATV (Churchill, Dilts & Kalivas, 1992) y se ha sugerido que algunas de sus poblaciones controlan la liberación de DA en el ATV (Adell & Artigas, 2004). Estudios electrofisiológicos sugieren que las

neuronas dopaminérgicas del ATV son hiperpolarizadas por la administración de agonistas a GABA<sub>A</sub> (Johnson & North, 1992).

Los resultados de este experimento podrían deberse a que la administración del antagonista GABA<sub>A</sub> bicuculina bloquea la actividad de los receptores GABA<sub>A</sub> del ATV, impidiendo los efectos de activación producidos por la administración de una dosis baja del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, sobre la señal discriminativa de la ANF. En conjunto, estos datos apoyan la hipótesis de que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> presinápticos juegan un papel importante en la adicción a las drogas.

## DISCUSIÓN GENERAL

Los experimentos que aquí se reportan formaron parte de una investigación diseñada para evaluar el papel de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en la señal discriminativa de la ANF. Así, se condujeron experimentos para evaluar los efectos de la administración sistémica de dosis bajas y altas del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT sobre la señal discriminativa de la ANF, utilizando el CAS como procedimiento de discriminación de drogas. Además, se evaluó el efecto de la administración sistémica de una dosis baja o alta del agonista 8-OH-DPAT y del antagonista WAY100135 sobre las concentraciones extracelulares de DA en el NAcc y GABA en el ATV, utilizando como procedimiento la microdiálisis cerebral.

Los resultados de la presente investigación indican que la administración de una dosis baja de 8-OH-DPAT (0.03 mg/kg), disminuyó la señal discriminativa de la ANF mientras que la administración del antagonista WAY100135 previno este efecto. Estos resultados demuestran en primer lugar, que el entrenamiento de discriminación de drogas con la técnica de CAS es útil para proporcionar información sobre las propiedades discriminativas de las drogas de abuso. Este procedimiento tiene la ventaja de que los sujetos aprenden en pocos ensayos la discriminación droga-salina. Esta ventaja se ha demostrado en otras investigaciones donde utilizaron como estímulo discriminativo; agonistas a 5-HT (Lucki, 1988), morfina (Martin, Gans & Van der Kooy, 1990) y ANF (Herrera & Velázquez, 1997).

En segundo lugar, la disminución de la señal discriminativa de la ANF posterior a la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, por la administración sistémica de una dosis baja (0.03 mg/kg) del agonista 8-OH-DPAT, sugiere que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> pueden estar involucrados en la modulación de la señal discriminativa de la ANF. Estos resultados son consistentes con reportes previos sobre el papel de estos receptores en conductas relacionadas con la adicción a drogas psicoestimulantes. Así, se ha reportado que los efectos del tratamiento

agudo del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, con dosis que estimulan preferencialmente a los autorreceptores, bloquea los efectos estimulantes del aparato locomotor inducidos por la cocaína (Carey et al., 2005). Además, la estimulación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> bloquea las propiedades discriminativas de la metanfetamina (Sasaki, Tatham & Barrett, 1995) y reduce la expresión de la sensibilización inducida por ANF (Przegaliński, Siwanowicz, Baran & Filip, 2000).

Adicionalmente, se ha reportado que el agonista 8-OH-DPAT inhibe la hiperactividad inducida por la cocaína (Przegalinski & Filip, 1997). De igual forma, diferentes compuestos afines a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, como la buspirona, la gepirona y el NAN 190, demostraron modular los efectos de estímulo discriminativo de la cocaína en pichones (Johanson & Barrett, 1993), este efecto también se ha demostrado en monos entrenados a discriminar ANF de salina en un paradigma de discriminación de dos palancas, en donde el orden de eficacia para la atenuación de la señal discriminativa fue: 8-OH-DPAT, buspirona y gepirona, similar a sus afinidades de unión a receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Nader & Woolverton, 1994).

Además, se ha reportado que la estimulación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> es capaz de modular la hiperactividad inducida por cocaína a través del circuito dopaminérgico del mesoaccumbens, el cual regula los efectos conductuales de la cocaína (De la Garza & Cunningham, 2000). Otro estudio reportó que después de una administración de dosis bajas del agonista 8-OH-DPAT, disminuyeron los umbrales de reforzamiento; este efecto se ha relacionado con los efectos gratificantes de la estimulación intracraneal (Anh et al., 2005).

Con base en los resultados anteriores, diversos autores sugieren que el efecto de las dosis bajas de agonistas a receptores 5-HT<sub>1A</sub> parece estar mediado por los autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> somatodendríticos del núcleo del rafe (Anh et al., 2005; Fletcher, Cliffe & Dourish, 1993).

Los resultados de la presente investigación también demostraron que después de la administración de una dosis alta del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT (0.1-1.0 mg/kg), no se alteró la señal discriminativa de la ANF. Esto concuerda con estudios realizados con ratas, en los que el pretratamiento con dosis altas de agonistas a receptores 5-HT<sub>1A</sub> no bloqueó los efectos de estímulo discriminativo de la ANF o de la cocaína (Callahan & Cunningham, 1995; Przegalinski & Filip, 1997; Rapoza, 1993; Walsh & Cunningham, 1997; Young et al., 2006).

Considerando estos resultados, algunos investigadores han sugerido que estos efectos diferenciales que producen los agonistas a receptores 5-HT<sub>1A</sub> se deben a una mayor sensibilidad de los autorreceptores somatodendríticos en comparación de los receptores postsinápticos (Yocca, Iben & Meller, 1992). De acuerdo con lo anterior, se sabe que las dosis bajas de agonistas a receptores 5-HT<sub>1A</sub> activan preferencialmente a los autorreceptores somatodendríticos mientras que las dosis altas activan a los receptores 5-HT<sub>1A</sub> postsinápticos. Además, se ha demostrado que los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, principalmente los del núcleo del rafe anterior, pueden acoplarse a diferentes tipos de proteínas G y por lo tanto producir un efecto diferencial al ser activados (Mannoury la Cour, Mestikawy, Hanoun, Hamon & Lanfumey, 2006).

El mecanismo que podría explicar la disminución de los efectos discriminativos de la ANF después de la administración del 8-OH-DPAT en la presente investigación podría ser el siguiente: debido a que el sistema de la recompensa del cerebro recibe proyecciones serotoninérgicas del núcleo del rafe, una disminución o un aumento en la liberación de 5-HT podría modificar la concentración de DA en el NAcc y alterar los efectos conductuales de las drogas de abuso. Las neuronas serotoninérgicas provenientes del núcleo del rafe inervan el ATV y el NAcc (Broderick & Phelix, 1997). Además, el control de las neuronas dopaminérgicas del ATV está regulado por diferentes receptores, entre ellos, los receptores 5-HT<sub>1B</sub>, que se encuentran localizados en las terminales de las

interneuronas GABAérgicas del ATV. La estimulación de los receptores 5-HT<sub>1B</sub> tiene un efecto inhibitorio en la liberación de GABA, y por lo tanto, desinhiben las neuronas dopaminérgicas del ATV (ver Figura 20). Los resultados de esta investigación apoyan la hipótesis de que los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, podrían estar involucrados en los efectos conductuales de las drogas de abuso, debido a que se ha reportado que la administración de dosis bajas (0.03 mg/kg) de 8-OH-DPAT disminuye la actividad de las neuronas serotoninérgicas que proyectan a las interneuronas GABAérgicas del ATV (Hervé et al., 1987; Van Bockstaele et al., 1994), disminuyendo la actividad de los receptores 5-HT<sub>1B</sub> de las interneuronas GABAérgicas (Yan, Zheng, Yan, 2004) lo que tiene por consecuencia un incremento en los niveles extracelulares de GABA en ATV y una disminución en los niveles de DA en NAcc (O'Dell & Parsons, 2004; Yan, Zheng, Feng & Yan, 2005; Yan, Zheng & Yan, 2004).

Los experimentos con la técnica de microdiálisis que se reportan en la presente investigación, apoyan la sugerencia anterior. Debido a que la administración sistémica de una dosis baja de 8-OH-DPAT aumentó las concentraciones de GABA en el ATV, y el pretratamiento con el antagonista WAY100135 previno este efecto, estos datos son compatibles con la idea de que la activación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> al disminuir la actividad serotoninérgica, también disminuye la actividad de los receptores 5-HT<sub>1B</sub>, por lo que las interneuronas GABAérgicas del ATV serían desinhibidas, incrementando las concentraciones de GABA en dicha región. Existe evidencia experimental de que los receptores 5-HT<sub>1B</sub> están localizados principalmente en axones terminales (Sari et al., 1999) en donde regulan la liberación de neurotransmisor de las terminales nerviosas y funcionan como heterorreceptores en algunas áreas cerebrales, inhibiendo la liberación de GABA (Yan & Yan, 2001a).

Estos datos también podrían explicar por qué tras la administración de una dosis baja de 8-OH-DPAT se observó una disminución de las concentraciones extracelulares de DA en el *shell* del NAcc, ya que el incremento de GABA

extracelular del ATV tiene como consecuencia un decremento de la DA del NAcc. Estos datos son consistentes con reportes previos donde la inhibición directa de neuronas serotoninérgicas del núcleo del rafe con la microinyección de 8-OH-DPAT (1.0 y 2.0  $\mu\text{g}$ ) produjo un decremento de aproximadamente el 25% DA en el NAcc (Yoshimoto & McBride, 1992), en otro estudio de microdiálisis la administración sistémica del 8-OH-DPAT (25, 50 y 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  s.c.) previa a la de ANF (1.0  $\text{mg}/\text{kg}$  s.c.) inhibió el incremento de DA extracelular en el NAcc, y éste efecto fue prevenido por la administración del antagonista WAY100635 (Ichikawa, Kuroki, Kitchen & Meltzer, 1995).

Adicionalmente, los resultados de la presente investigación muestran que la administración de una dosis alta (1.0  $\text{mg}/\text{kg}$ ) de 8-OH-DPAT no afectó las concentraciones de DA en el NAcc. Ichikawa y Meltzer (1999), reportaron que la administración de R(+)-8-OH-DPAT (0.05  $\text{mg}/\text{kg}$  s.c.) no produjo alguna alteración en las concentraciones basales de DA en el NAcc. Por otra parte, se ha reportado que una dosis alta de 8-OH-DPAT (3.0  $\text{mg}/\text{kg}$  s.c.) decrementó la acumulación de DOPA (Johnson, Tsai, Shahan & Azzaro, 1993), este resultado podría ser análogo al de la administración de R (+)-8-OH-DPAT (1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) que produce un efecto inhibitor menor sobre la liberación de DA inducida por ANF (Ichikawa et al., 1995).

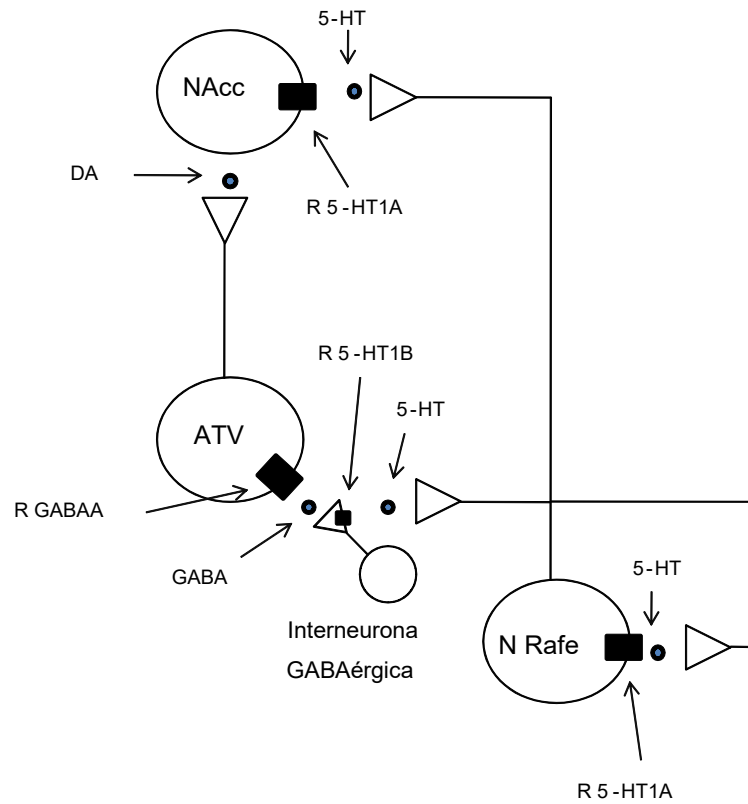
En la presente investigación también se observó que la administración del antagonista GABA<sub>A</sub> bicuculina, previa a la administración del agonista 8-OH-DPAT más una dosis de ANF, previno el efecto del 8-OH-DPAT sobre la señal discriminativa de la ANF. La bicuculina es un antagonista que tiene afinidad por los receptores GABA<sub>A</sub> localizados en los cuerpos celulares de las neuronas dopaminérgicas del ATV (Gatch, Selving, Forster, 2005; Vashchinkina, Panhelainen, Aitta-Aho, Korpi, 2014). De esta forma, el bloqueo de estos receptores impediría la influencia de las interneuronas GABAérgicas del ATV. El mecanismo que podría explicar los efectos observados en este experimento es similar al mencionado previamente. El apoyo empírico de esta sugerencia proviene de estudios que reportan que la actividad de las neuronas

dopaminérgicas del ATV es inhibida por la influencia de las interneuronas GABAérgicas del ATV (Johnson & North, 1992), y como consecuencia de esta inhibición, se alteran los procesos de gratificación o recompensa (Van Zessen, Phillips, Budygin & Stuber, 2012). Los efectos inhibitorios de las interneuronas GABAérgicas sobre las neuronas dopaminérgicas del ATV son mediadas por los receptores GABA<sub>A</sub> localizados en los cuerpos celulares de esas neuronas (Westerink, Kwint & DeVries, 1996). Adicionalmente, se ha reportado que el bloqueo farmacológico con el antagonista de los receptores GABA<sub>A</sub>, bicuculina aumenta los estallidos de disparo de las neuronas dopaminérgicas (Paladini & Tepper, 1999) y aumenta los niveles extracelulares de DA en el NAcc (Ikemoto, Kohl & McBride, 1997), sugiriendo que las interneuronas GABAérgicas de ATV controlan la actividad de las neuronas dopaminérgicas de ATV a través de los receptores GABA<sub>A</sub>.

También se ha reportado que la neurotransmisión serotoninérgica regula la actividad de las interneuronas GABAérgicas del ATV (Johnson & North, 1992), e indirectamente, también modula la actividad de las neuronas dopaminérgicas del ATV (Yan, Zheng & Yan, 2004). Esta modulación involucra a varios tipos de receptores serotoninérgicos, entre ellos los receptores 5-HT<sub>1B</sub> (Yan et al., 2004), localizados con moderada densidad como heterorreceptores en las terminales de las interneuronas GABAérgicas del ATV que hacen contacto sináptico con neuronas dopaminérgicas (Bruinvels et al., 1994). Debido a que los receptores 5-HT<sub>1B</sub> están acoplados negativamente a la adenilatociclasa, el aumento o disminución de la neurotransmisión serotoninérgica, disminuye o aumenta respectivamente, la liberación de GABA en ATV (Yan & Yan, 2001a, b). En este sentido, el bloqueo de los receptores GABA<sub>A</sub> en los cuerpos celulares de las neuronas dopaminérgicas podría prevenir la influencia indirecta de la 5-HT sobre el circuito de la recompensa (Ikemoto et al., 1997). De acuerdo con lo anterior, en la presente investigación se obtuvo que el bloqueo de los receptores GABA<sub>A</sub> por la bicuculina previno los efectos de la administración del 8-OH-DPAT sobre la señal discriminativa de la ANF.



En resumen, en la presente investigación se encontró que la administración de una dosis baja del agonista a receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT, previo a una dosis fija de ANF modula la señal discriminativa de ésta, de igual forma la administración del antagonista GABA<sub>A</sub> bicuculina previno los efectos del agonista 5-HT<sub>1A</sub>, 8-OH-DPAT sobre la señal discriminativa de la ANF. Estos datos proporcionan evidencia de que las conductas relacionadas con la adicción a los psicoestimulantes como la ANF, involucran diferentes sistemas de neurotransmisión principalmente la DA, la 5-HT y el GABA.



*Figura 20.* Posible mecanismo de acción por la estimulación de los receptores  $5-HT_{1A}$ . Los receptores  $5-HT_{1A}$ , disminuyen la actividad de las neuronas serotoninérgicas que proyectan a las interneuronas GABAérgicas del ATV, produciendo una disminución en la actividad de los receptores  $5-HT_{1B}$  de las interneuronas GABAérgicas incrementando los niveles extracelulares de GABA en ATV y disminuyendo los niveles de DA en NAcc. ATV: área tegmental ventral; DA: dopamina; 5-HT: serotonina; N: núcleo; NAcc; núcleo accumbens; R: receptor.

## CONCLUSIONES

Los resultados de los experimentos de esta tesis doctoral permiten sugerir las siguientes conclusiones: con respecto al CAS como línea base de aprendizaje para la discriminación de drogas, los presentes resultados y otros sugieren que es una herramienta útil para la investigación de los mecanismos neurobiológicos que intervienen en la adicción a las drogas.

Con respecto a la evaluación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> los resultados muestran que su estimulación con una dosis baja, es importante en la modulación de la señal discriminativa de la ANF y por lo tanto, podrían ser un importante blanco farmacológico para el desarrollo de tratamientos relacionados a la adicción de psicoestimulantes como la ANF.

Sin embargo, cabe destacar que a pesar de los avances que se han obtenido en la comprensión de la adicción a las drogas y de los mecanismos tanto conductuales como neurofisiológicos que le subyacen, aún quedan muchas áreas por explorar. De igual forma se sugiere tomar con cautela los resultados encontrados y comprobar mediante el uso de otros paradigmas el efecto de la estimulación de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en la adicción. Asimismo, resultaría interesante el empleo de otras técnicas como registros electrofisiológicos *in vivo* para un análisis más fino en la detección de cambios en la liberación de DA o técnicas como la optogenética que permiten estimular neuronas en regiones específicas en animales *in vivo*, por ejemplo, la estimulación directa de los autorreceptores somatodendríticos 5-HT<sub>1A</sub> del núcleo del rafe.

## REFERENCIAS

- Adell, A. & Artigas, F. (2004). The somatodendritic release of dopamine in the ventral tegmental area and its regulation by afferent transmitter systems. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28(4), 415-431.
- Albert, P. R., Zhou, Q. Y., Van, Tol H. H., Bunzow, J. R. & Civelli, O. (1990). Cloning functional expression and mRNA tissue distribution of the rat 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene. *Biological Chemistry*, 265 (10), 5825-5832.
- Albert, V.R., Lee, M.R., Bolden, A.H., Wurzbarger, R. J. & Aguanno, A. (1992). Distinct promoters direct neuronal and non-neuronal expression of rat aromatic L-amino acid decarboxylase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(24), 12053-12057.
- Amara, S. G. & Sonders, M. S. (1998). Neurotransmitter transporters as molecular targets for addictive drugs. *Drug Alcohol Dependence*, 51, 87-96.
- Anh, K. C, Pazderka-Robinson, H., Clements, R., Ashcroft, R., Ali, T., Morse, C. & Greenshaw, A. J. (2005). Differential effects of intra-midbrain raphe and systemic 8-OH-DPAT on VTA self-stimulation thresholds in rats. *Psychopharmacology*, 178(4), 381-388.
- Bahena-Trujillo, R., Flores, G. & Arias-Montaña, J. A. (2002). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el sistema nervioso central. *Revista Biomédica*, 11, 39-60.
- Baldo, B. A., Jain, K., Varaldi, L., Koob, G. F. & Markou, A. (1999). A dopamine D1 agonist elevates self-stimulation thresholds: Comparison to other dopamine-selective drugs. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 62(4), 659-672.
- Barrett, A. C., Negus, S.S., Mello, N. K. & Caine, S. B. (2005). Effect of GABA agonists and GABA-A receptor modulators on cocaine- and food-maintained responding and cocaine discrimination in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 315(2), 858-871.
- Berridge, M. J. (2005). Unlocking the secrets of cell signaling. *Annual Review of Physiology*, 67, 1-21.

- Best, P. (2006). Olds, James. Introductory article. *EUA: Encyclopedia of Cognitive Science*.
- Blier, P., Lista, A. & De Montigny, C. (1993a). Differential properties of pre- and postsynaptic 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptors in the dorsal raphe and hippocampus: I. Effect of spiperone. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 265, 7-15.
- Blier, P., Lista, A. & De Montigny, C. (1993b). Differential properties of pre- and postsynaptic 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptors in the dorsal raphe and hippocampus: II. Effect of pertussis and cholera toxins. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 265, 16-23.
- Broderick, P. A. & Phelix, C. F. (1997). I. Serotonin (5-HT) within dopamine reward circuits signals open-field behavior. II. Basis for 5-HT-DA interaction in cocaine dysfunctional behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 21(3), 227-260.
- Bruinvels, A. T., Landwehrmeyer, B., Gustafson, E. L., Durkin, M., Mengod, G., Branchek, T. A., Hoyer, D. & Palacios, J. M. (1994). Localization of 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub> alpha, 5-HT<sub>1E</sub> and 5-HT<sub>1F</sub> receptor messenger RNA in rodent and primate brain. *Neuropharmacology*, 33(3-4), 267-386.
- Caine, S.B., Negus, S.S., Mello, N. K. & Bergman, J. (1999). Effects of dopamine D(1-like) and D(2-like) agonists in rats that self-administer cocaine. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 291, 353-260.
- Callahan, P. M. & Cunningham, K. A. (1995). Modulation of the discriminative stimulus properties of cocaine by 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 274(3), 1414-1424.
- Callahan, P. M. & Cunningham, K. A. (1997). Modulation of the discriminative stimulus properties of cocaine: comparison of the effects of fluoxetine with 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonists. *Neuropharmacology*, 36(3), 373-381.
- Cappell, H. & LeBlanc, A. E. (1977). Gustatory avoidance conditioning by drugs of abuse: Relationships to general issues in research on drug dependence. En Milgram, N., Krames, L. & Alloway T. (Eds.). *Food Aversion Learning*. Nueva York: Plenum Press.

- Carey, R. J., Damianopoulos, E. & DePalma, G. (2000). The 5-HT (1A) antagonist WAY 100635 can block the low-dose locomotor stimulant effects of cocaine. *Brain Research*, 862(1-2), 242-246.
- Carey, R. J., DePalma, G. & Damianopoulos, E. (2001). Cocaine and serotonin: A role for the 5-HT (1A) receptor site in the mediation of cocaine stimulant effects. *Behavioural Brain Research*, 126(1-2), 127-133.
- Carey, R.J., DePalma, G. & Damianopoulos, E. (2002). 5-HT<sub>1A</sub> agonist/antagonist modification of cocaine stimulant effects: Implications for cocaine mechanisms. *Behavioural Brain Research*, 132, 37-46.
- Carey, R.J., DePalma, G., Damianopoulos, E., Hopkins, A., Shanahan, A., Müller, C.P. & Huston, J. P. (2004a). Dopaminergic and serotonergic autoreceptor stimulation effects are equivalent and additive in the suppression of spontaneous and cocaine induced locomotor activity. *Brain Research*. 1019 (1-2), 134-143.
- Carey, R. J., DePalma, G., Damianopoulos, E., Müller, C. P. & Huston, J. P. (2004b). The 5-HT<sub>1A</sub> receptor and behavioral stimulation in the rat: effects of 8-OHDPAT on spontaneous and cocaine-induced behavior. *Psychopharmacology*, 177(1-2), 46-54.
- Carey, R. J., DePalma, G., Damianopoulos, E., Shanahan, A., Müller, C. P. & Huston, J. P. (2005). Evidence that the 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptor is an important pharmacological target for the modulation of cocaine behavioral stimulant effects. *Brain Research*, 1034(1-2), 162-171.
- Carli, M., Prontera, C. & Samanin, R., (1989). Effect of 5-HT<sub>1A</sub> agonists on stress induced deficit in open field locomotor activity of rats: evidence that this model identifies anxiolytic-like activity. *Neuropharmacology*, 28(5), 471-476.
- Carlson, N. (1993). Fisiología de la conducta. España: Ariel Neurociencia.
- Carrasco, G. A., Barker, S. A., Zhang, Y., Damjanoska, K. J., Sullivan, N. R., Garcia, F., D' souza, D. N., Muma, N. A. & Van de Kar L. D. (2004). Estrogen treatment increases the levels of regulator of G protein signalingZ-1 in the hypothalamic paraventricular nucleus: possible role in desensitization of 5-hidroxitriptamine 1A receptors. *Neuroscience*. 127(2), 261-267.

- Childress, A. R. & O'Brien, C. P. (2000). Dopamine receptor partial agonists could address the duality of cocaine craving. *Trends Pharmacological Sciences*, 21, 6-9.
- Churchill, L., Dilts, R. P. & Kalivas, P. W. (1992). Autoradiographic localization of gamma-aminobutyric acid receptors within the ventral tegmental area. *Neurochemical Research*, 17, 101-106.
- Colpaert, F. C. (1987). Drug discrimination: Methods of manipulation, measurement, and analysis. Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs. Nueva York: Springer-Verlag.
- Consejo Nacional Contra las Adicciones (2011). Encuesta Nacional de Adicciones 2011. Secretaría de Salud: México.
- Consejo Nacional Contra las Adicciones (2016). Observatorio mexicano en tabaco alcohol y otras drogas. Secretaria de Salud: México.
- Cooper, J., Bloom, F. & Roth, R. (2003). The biochemical basis of neuropharmacology. EUA: Oxford.
- Creed, M. C., Ntamati, N. R. & Tan, K. R. (2014). VTA GABA neurons modulate specific learning behaviors through the control of dopamine and cholinergic systems. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 8(8), 1-7
- Dahlström, A. & Fuxe, K. (1964). Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia*, 20(7), 398-399.
- De la Garza, R. & Cunningham, K. A. (2000). The effects of the 5-hydroxytryptamine(1A) agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin on spontaneous activity, cocaine-induced hyperactivity and behavioral sensitization: a microanalysis of locomotor activity. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 292(2), 610-617.
- Dekeyne, A., Brocco, M., Adhumeau, A., Gobert, A. & Millan, M. J. (2000). The selective serotonin (5-HT)(1A) receptor ligand, S15535, displays anxiolytic-like effects in the social interaction and Vogel models and suppresses dialysate levels of 5-HT in the dorsal hippocampus of freely-moving rats a comparison with other anxiolytic agents. *Psychopharmacology*, 152, 55-66.

- Di Chiara, G. (1995). The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. *Drug Alcohol Depend*, 38, 95-137.
- Doherty, M.D. & Pickel, V. M. (2001). Targeting of serotonin 1A receptors to dopaminergic neurons within the parabrachial subdivision of the ventral tegmental area in rat brain. *Journal of Comparative Neurology*, 433(3), 390-400.
- Dourish, C., Hutson, P.T. & Curzon, G. H. (1985a). Low doses of the putative serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) elicit feeding in the rat. *Psychopharmacology*, 86(1-2), 197-204.
- Dourish, C., Hutson, P. T. & Curzon, G. H. (1985b). Characteristics of feeding induced by the serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-normal-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). *Brain Research Bull*, 15(4), 377-384.
- Duvauchelle, C. L., Fleming, S. M. & Kornetsky, C. (1998). Prefrontal cortex infusions of SCH 23390 cause immediate and delayed effects on ventral tegmental area stimulation reward. *Brain Research*, 16, 811(1-2), 57-62.
- El Mestikawy, S., Fargin, A., Raymond, J.R., Gozlan, H. & Hnatoiwich, M. (1991). The 5-HT<sub>1A</sub> receptor: an overview of recent advances. *Neurochemical Research*, 16, 1-10.
- Elliott, J.M. & Beveridge, T. J. (2005). Psychostimulants and monoamine transporters: upsetting the balance. *Current Opinion in Pharmacology*, 5, 94-100.
- Fargin, A., Raymond, J.R., Lohse, M.J., Kobilka, B.K., Caron, M. G. & Lefkowitz, R. J. (1988). The genomic clone G-21 which resembles a beta-adrenergic receptor sequence encodes the 5-HT<sub>1A</sub> receptor. *Nature*, 335(6188), 358-360.
- Feldman, R.S., Meyer, J. S. & Quenzer, L.F. (1996). *Principles of Neuropsychopharmacology*. Massachusetts, USA: Sinauer.
- Fletcher, A., Cliffe, I. A. & Dourish, C. T. (1993). Silent 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonists: utility as research tools and therapeutic agents. *Trends in Pharmacological Sciences*, 14(12), 41-48.



- Fletcher, P. J., Tampakeras, M. & Yeomans, J. S. (1995). Median raphe injections of 8-OH-DPAT lower frequency thresholds for lateral hypothalamic self-stimulation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 52(1), 65-71.
- Fuxe, K. (1965). Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. Distribution of monoamine nerve terminals in the central nervous system. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum*, 247-237.
- García, J., Kimeldorf, D. J. & Koelling, R. A. (1955). Conditioned aversion to saccharin resulting from exposure to gamma radiation. *Science*. 122 (3160), 157-158.
- Gatch, M.B., Selvig, M. & Forster, M. J. (2005). GABAergic modulation of the discriminative stimulus effects of methamphetamine. *Behavioural Pharmacology*. 16(4), 261-266.
- Glennon, R. A. (1986). Discriminative stimulus properties of the 5-HT<sub>1A</sub> agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH DPAT). *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 25, 135-139.
- Gozlan, H., El Mestikawy, S., Pichat, L., Glowinski, J. & Hamon, M. (1983). Identification of presynaptic serotonin autoreceptors using a new ligand: 3H-PAT. *Nature*, 8-14; 305(5930), 140-142.
- Grech, D. M., Spealman, R. D. & Bergman, J. (1996). Self-administration of D1 receptor agonists by squirrel monkeys. *Psychopharmacology*, 125(2), 97-104.
- Guan, X. M. & McBride, W. J. (1989). Serotonin microinfusion into the ventral tegmental area increases accumbens dopamine release. *Brain Research Bulletin*, 2(6), 541-547.
- Haleem, D. J. (2010). Neurochemistry, neuropharmacology and behavior outlines on the mechanism of brain function. Germany: VDM Publishers.
- Haleem, D. J. (2013). Extending therapeutic use of psychostimulants: focus on serotonin-1A receptor. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 46, 170-180.
- Haleem, D. J., Kennett, G. A. & Curzon, G. (1990). Hippocampal 5-hydroxytryptamine synthesis is greater in female rats than in males and

more decreased by the 5-HT<sub>1A</sub> agonist 8-OH-DPAT. *Journal of Neural Transmission. General Section*, 79(1-2), 93-101.

Hamon, M. (2000). The Main Features of Central 5-HT<sub>1A</sub> Receptors. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 129, 239-268.

Hamon, M., Gozlan, H., El Mestikawy, S., Emerit, M. B., Bolaños, F. & Schechter, L. (1990). The central 5-HT<sub>1A</sub> receptors: pharmacological, biochemical, functional, and regulatory properties. *Annals of the New York academy of Sciences*, 600, 114-131.

Harrington, M. A. & Peroutka, S. J. (1990). Modulation of 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptor density by nonhydrolyzable GTP analogues. *Journal, of Neurochemistry*, 54, 294-299.

Harrington, M. A., Zhong, P., Garlow, S. J. & Ciaranello, R. D. (1992). Molecular biology of serotonin receptors. *Journal Clinic Psychiatry*, 53, 8-27.

Harrison, A. A. & Markou, A. (2001). Serotonergic manipulations both potentiate and reduce brain stimulation reward in rats: Involvement of serotonin<sub>1A</sub> receptors. *The Journal Pharmacology Experimental Therapeutics*. 297, 316-325.

Hemby, S. E., Co, C., Dworkin, S. I. & Smith, J. E. (1999). Synergistic elevations in nucleus accumbens extracellular dopamine concentrations during self-administration of cocaine/heroin combinations (Speedball) in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 288, 274-280.

Hensler, L. A., Cowley, M. A., Kishi, T., Tecott, L. H., Fan, W., Low, M.J., Smart, J., Rubinstein M., Tatro, J., Zigman, J. M, Cone, R. D. & Elmquist, J. K. (2003). Central serotonin and melacortin pathways regulating energy homeostasis. *Annals of New Year Academy of Sciences*, 994, 169-174.

Herrera, F. & Velázquez-Martínez, D. N. (1997). Discriminative stimulus properties of amphetamine in a conditioned taste aversion paradigm. *Behavioral Pharmacology*. 8(5), 458-464.

Hervé, D., Pickel, V. M., Joh, T.H. & Beaudet, A. (1987). Serotonin axon terminals in the ventral tegmental area of the rat: fine structure and synaptic input to dopaminergic neurons. *Brain Research*, 435(1-2), 71-83.

- Hillegaart, V., Wadenberg, M. L. & Ahlenius, S. (1989). Effects of 8-OH-DPAT on motor activity in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 32(3), 797-800.
- Hnasko, T. S., Hjelmstad, G. O., Fields, H. L. & Edwards, R. H. (2012). Ventral tegmental area glutamate neurons: electrophysiological properties and projections. *Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 32, 15076-15085.
- Hoyer, D., Clarke, D. E., Fozard, J. R., Harting, P. R., Martin, G. R., Mylecharane, E. J., Saxena, P. R. & Humphrey, P. P. (1994). VII international union of pharmacology classification of receptors for 5-Hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacological Reviews*, 46(2), 157-203.
- Hoyer, D., Hannon, J. P. & Martin, G. R. (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 71(4), 533-554.
- Ichikawa, J. & Kuroki, T., Kitchen, M. T. & Meltzer, H. Y. (1995). R(+)-8-OH-DPAT, a 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist, inhibits amphetamine-induced dopamine release in rat striatum and nucleus accumbens. *European Journal of Pharmacology*, 287(2), 179-184.
- Ichikawa, J. & Meltzer, H. Y. (1999). R(+)-8-OH-DPAT, a serotonin (1A) receptor agonist, potentiated S(-)-sulpiride-induced dopamine release in rat medial prefrontal cortex and nucleus accumbens but not striatum. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 291(3), 1227-1232.
- Ichikawa, J. & Meltzer, H. Y. (2000). The effect of serotonin(1A) receptor agonist on antipsychotic drug-induced dopamine release in rat striatum and nucleus accumbens. *Brain Research*, 858(2), 252-253.
- Ikemoto, S., Kohl, R. R. & McBride, W. J. (1997). GABA(A) receptor blockade in the anterior ventral tegmental area increases extracellular levels of dopamine in the nucleus accumbens of rats. *Journal of Neurochemistry*. 69, 137-143.
- Jackson, D. M., Wallsten, C. E., Jerning, E., Hu, P. S. & Deveney, A. M. (1998). Two selective 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonists, WAY-100 635 and NDL-249, stimulate locomotion in rats acclimatized to their environment and alter their behaviour: a behavioural analysis. *Psychopharmacology*, 139(4), 300-310.

- Johanson, C. E. & Barrett, J. E. (1993). The discriminative stimulus effects of cocaine in pigeons. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 267, 1-8.
- Johnson, E. A., Tsai, C.E., Shahan, Y. H. & Azzaro, A. J. (1993). Serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptors mediate inhibition of tyrosine hydroxylation in rat striatum. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 266, 133-141.
- Johnson, S. W. & North, R. A. (1992). Two types of neuron in the rat ventral tegmental area and their synaptic inputs. *The Journal of Physiology*, 450, 455-468.
- Kahlig, K. M. & Galli, A. (2003). Regulation of dopamine transporter function and plasma membrane expression by dopamine, amphetamine, and cocaine. *European Journal of Pharmacology*, 479(1-3), 153-158.
- King, G. R., Joyner, C., Lee, T. H. & Ellinwood, E.H. (1993). Withdrawal from continuous or intermittent cocaine effects of NAN-190 on cocaine induced locomotion. *Pharmacology Biochemistry Behaviour*, 44(2), 253-262.
- Kobilka, B. K., Frielle, T., Collins, S., Yang-Feng, T., Kobilka, T. S., Francke, U., Lefkowitz, R. J. & Caron, M. G. (1987). An intronless gene encoding a potential member of the family of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. *Nature*. 329(6134), 75-79.
- Koe, B. K. (1976). Molecular geometry of inhibitors of the uptake of catecholamines and serotonin in synaptosomal preparations of rat brain. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 199(3), 649-661.
- Koob, G. F. & Le Moal, M. (2006). Neurobiology of addiction. Nueva York: Academic Press.
- Koob, G. F. & Volkow, N. D. (2016). Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *Lancet Psychiatry*, 3, 760-773.
- Koob, G. F., Sanna, P. P. & Bloom, F. E. (1998). Neuroscience of addiction. *Neuron*, 21(3), 467-476.
- Kravitz, A. V., Tye, L. D. & Kreitzer, A. C. (2012). Distinct roles for direct and indirect pathway striatal neurons in reinforcement. *Nature neuroscience*, 15(6), 816-818.

- Kupfermann, I., Kandel, E. R. & Iversen, S. (2001). Estados de motivación y adictivos. En: Kandel, E., Schwartz, J. & Jessell, T. (Eds), *Principios de neurociencia*. Madrid: McGrawHill Interamericana.
- Kursar, J. D., Nelson, D. L., Wainscott, D.B., Cohen, M. L. & Baez, M. (1992). Molecular cloning, functional expression and pharmacological characterization of a novel serotonin receptor (5-hidroxitriptamine2F) from a rat stomach fundus. *Molecular Pharmacology*, 42(4), 549-557.
- Lanfumeey, L. & Hamon, M. (2000). Central 5-HT<sub>1A</sub> receptors: regional distribution and functional characteristics. *Journal of Nuclear Medicine*. 27(5), 409-419.
- LeBlanc, A. E., Poulos, C. X. & Cappell, H.D. (1978). Tolerance as a behavioral phenomenon: Evidence from two experimental paradigms. En Krasnegor, N. (Ed.). *Behavioral tolerance: Research and tretament implications*: NIDA research monograph 18. Maryland: NIDA.
- Li, Q., Battaglia, G. & Van de Kar, L. D. (1997). Autoradiographic evidence for differential G-protein coupling of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in rat brain: lack of effect of repeated injections of fluoxetine. *Brain Research*, 769, 141-151.
- Lobo, M. K., Covington, H. Erd, Chaudhury, D., Friedman, A. K., Sun, H., Damez-Werno, D., Dietz, D. M., Zaman, S., Koo, J. W., Kennedy, P. J., Mouzon, E., Mogri, M., Neve, R. L., Deisseroth, K., Han, M. H. & Nestler, E. J. (2010). Cell type-specific loss of BDNF signaling mimics optogenetic control of cocaine reward. *Science*, 330, 385-390
- Lucki, I. & Wieland, S. (1990). 5-Hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptors and behavioral responses. *Neuropsychopharmacology*, 3(5-6), 481-93.
- Lucki, I. (1988). Rapid discrimination of the stimulus properties of 5 hydroxytryptamine agonists using conditioned taste aversion. *The Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 247(3), 1120-1127.
- Lucki, I. (1992). 5-HT<sub>1</sub> receptors and behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 16, 83-93.
- Lucki, I., Ward, H. R. & Frazer, A. (1989). Effect of 1-(m-chlorophenyl)piperazine and 1-(m-trifluoromethylphenyl) piperazine on locomotor activity. *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics*. 249, 155-164.

- Mannoury la Cour, C., El Metikawy, S., Hanoun, N., Hamon, M. & Lanfumey, L. (2006). Regional differences in the coupling of 5-hydroxytryptamine-1A receptors to G proteins in the rat brain. *Molecular Pharmacology*, 70(3), 1013-1021.
- Markou, A., Harrison, A. A., Chevrette, J. & Hoyer, D. (2005). Paroxetine combined with a 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist reversed reward deficits observed during amphetamine withdrawal in rats. *Psychopharmacology*, 178(2-3), 133-142.
- Martin, G. M., Gans, M. & Van der Kooy, D. (1990). Discriminative properties of morphine that modulate associations between taste and lithium chloride. *The Journal of Experimental Psychology Animal Behavior Processes*, 16, 56-68.
- Miranda, F. M. & Velázquez-Martínez, D. N. (1997). Discriminative stimulus properties of amphetamine in a conditioned taste aversion paradigm. *Behavioural Pharmacology*, 8, 458-464.
- Miranda, F., Jiménez, J. C., Cedillo, L. N., Sandoval-Sánchez, A., Millán-Mejía, P., Sánchez-Castillo, H. & Velázquez-Martínez, D. N. (2009). The GABA-B antagonist 2-hydroxysaclofen reverses the effects of baclofen on the discriminative stimulus effects of D-amphetamine in the conditioned taste aversion procedure. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 93, 25-30.
- Miranda, F., Sandoval-Sánchez, A., Cedillo, L. N., Jiménez, J. C., Millán-Mejía, P. & Velázquez-Martínez, D. N. (2007). Modulatory role of 5-HT<sub>1B</sub> receptors in the discriminative signal of amphetamine in the conditioned taste aversion paradigm. *Pharmacological Reports*, 59(5), 517-524.
- Mittman, S. M. & Geyer, M. A. (1989). Effects of 5-HT<sub>1A</sub> agonists on locomotor and investigatory behaviors in rats differ from those of hallucinogens. *Psychopharmacology*, 98(3), 321-329.
- Mongeau, R., Welner, S. A., Quirion, R. & Suranyi-Cadotte, B. E. (1992). Further evidence for differential affinity states of the serotonin<sub>1A</sub> receptor in rat hippocampus. *Brain Research*, 590(1-2), 229-238.
- Montgomery, A. M., Rose, I. C. & Herberg, L. J. (1991). 5-HT (1A) agonists and dopamine the effects of 8-OH-DPAT and buspirone on brain-stimulation reward. *Journal of Neural Transmission*, 83(1-2), 139-148.

- Müller, C. P., De Souza-Silva, M. A., DePalma, G., Tomaz, C., Carey, R. J. & Huston, J. P. (2002). The selective serotonin<sub>1A</sub>-receptor antagonist WAY 100635 blocks behavioral stimulating effects of cocaine but not ventral striatal dopamine increase. *Behavioural Brain Research*, 134(1-2), 337-346.
- Müller, C. P., Carey, R. J., Huston, J. P. & De Souza Silva, M. A. (2007). Serotonin and psychostimulant addiction: Focus on 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *Progress in Neurobiology*, 81(3), 133-178.
- Müller, C. P., Carey, R. J., Salloum, J. B. & Huston, J. P. (2003). Serotonin (1A) receptor agonist attenuates the cocaine-induced increase in serotonin levels in the hippocampus and nucleus accumbens but potentiates hyperlocomotion: an in vivo microdialysis study. *Neuropharmacology* 44(5), 592–603.
- Müller, C. P., Thönnessen, H., Barros, M., Tomaz, C., Carey, R. J. & Huston, J. P. (2004a). Hippocampus 5-HT (1A)-receptors attenuate cocaine-induced hyperlocomotion and the increase in hippocampal but not nucleus accumbens 5-HT. *Hippocampus*, 14(6), 710-721.
- Müller, C. P., Thönnessen, H., De Souza Silva, M. A., Fink, H., Bert, B., Carey, R. J. & Huston, J. P. (2004b). Nucleus accumbens serotonin<sub>1A</sub> receptors control cocaine-induced hyperactivity but not local serotonin increase: an in vivo microdialysis study. *Neuropharmacology* 47(2), 205-215.
- Nader, M. A. & Woolverton, W. L. (1994). Blockade of the discriminative stimulus effects of d-amphetamine in rhesus monkeys with serotonin 5-HT<sub>1A</sub> agonists. *Behavioural Pharmacology*, 5(6), 591-598.
- Negus, S. S., Mello, N. K. & Fivel, P. A. (2000). Effects of GABA agonists and GABA-A receptor modulators on cocaine discrimination in rhesus monkeys. *Psychopharmacology*, 152(4), 398-407.
- O'Dell, L. E. & Parsons, L. H. (2004). Serotonin<sub>1B</sub> receptors in the ventral tegmental area modulate cocaine-induced increases in nucleus accumbens dopamine levels. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 311(2), 711-719.
- Office on Drugs and Crime (2016). World Drug Report. United Nations.

- Olds, J. & Milner, P. (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 47(6), 419-427.
- Olds, M. E. & Fobes, J. L. (1981). The central basis of motivation: intracranial self-stimulation studies. *Annual Review of Psychology*, 32, 523-574.
- Organización Mundial de la Salud (2005). Neurociencia del consumo y dependencia de sustancias psicoactivas. Washington: OMS.
- Overton, D. A.(1991). A historical perspective on drug discrimination. *NIDA Research Monograph*, 116, 5-24.
- Paladini, C. A. & Tepper, J. M. (1999). GABA(A) and GABA(B) antagonists differentially affect the firing pattern of substantia nigra dopaminergic neurons in vivo. *Synapse*. 32(3), 165-176.
- Parsons, L. H., Weiss, F. & Koob, G. F. (1998). Serotonin<sub>1B</sub> receptor stimulation enhances cocaine reinforcement. *Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neurosciencie*, 18(23), 10078-10089.
- Paxinos, G. & Watson, CH. (2007). The rat brain in stereotaxic coordinates. Burlington, USA: Academic Press Elsevier.
- Pazos, A. & Palacios, J. M. (1985). Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors. *Brain Research*, 346(2), 205-230.
- Peltier, R & Schenk, S. (1993). Effects of serotonergic manipulations on cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology*, 110(4), 390-394.
- Pereira, T. (2008). Neurobiología de la adicción. *Revista de Psiquiatría del Uruguay*, 73, 9-24
- Piercey, M. F., Smith, M. W. & Lum-Ragan, J. T. (1994). Excitation of noradrenergic cell firing by 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> agonists correlates with dopamine antagonist properties. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 268(3), 1297-1303.



- Pompeino, M., Palacios, J. M. & Mengod, G. (1992). Distribution and cellular localization of mRNA coding for 5-HT<sub>1A</sub> receptor in the rat brain: correlation with receptor binding. *Journal of Neurosciencie*, 12(2), 440-453.
- Przegaliński, E. & Filip, M. (1997). Stimulation of serotonin (5-HT)<sub>1A</sub> receptors attenuates the locomotor, but not the discriminative, effects of amphetamine and cocaine in rats. *Behavioural Pharmacology*, 8(8), 699-706.
- Przegaliński, E., Siwanowicz, J. Baran, L. & Filip, M. (2000). Activation of serotonin (5-HT)<sub>1A</sub> receptors inhibits amphetamine sensitization in mice. *Life Sciences*, 66(11), 1011-1019.
- Rapoza, D. (1993). Buspirone fails to affect the discriminative stimulus effects of cocaine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 45, 179-183.
- Rapport, M. M., Green, A. A. & Page, I. H. (1948). Serum vasoconstrictor (serotonin): IV Isolation and characterization. *Journal Biology Chemistry*, 176(3), 1243-1251.
- Raymond, J. R., Mukhin, Y. V., Gelasco, A., Turner, J., Collinsworth, G., Gettys, T. W., Grewal, J. S. & Garnovskaya, M. N. (2001). Multiplicity of mechanisms of serotonin receptor signal transduction. *Pharmacology Therapeutics*, 92(2-3), 179-212.
- Raymond, J. R., Olsen, C. L. & Gettys, T. W. (1993). Cell-specific physical and fuctional coupling of human 5-HT<sub>1A</sub> receptors to inhibitory G protein alpha-subunits and lack of coupling to Gs alpha-subunits and lack of coupling to Gs alpha. *Biochemistry*, 32(41), 11064-11073.
- Riad, M., García, S., Watkins, K. C., Jodoin, N., Doucet, E., Langlois, X., El Mestikawy, S., Hamon, M. & Descarries, L. (2000). Somatodendritic localization of 5-HT<sub>1A</sub> and preterminal axonal localization of 5-HT<sub>1B</sub> serotonin receptors in adult rat brain. *Journal of Comparative Neurology*, 417(2), 181-194.
- Roberts, D. C. & Koob, G. F. (1982). Disruption of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions of the ventral tegmental area in rats. *Pharmacology, biochemistry and behavior*, 17(5), 901-904.
- Roberts, D. C., Koob, G. F., Klonoff, P. & Fibiger, H. C. (1980). Extinction and recovery of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions

of the nucleus accumbens. *Pharmacology, biochemistry and behavior*, 12(5), 781-787.

- Rothman, R. B. & Baumann, M. H. (2003). Monoamine transporters and psychostimulant drugs. *European Journal Pharmacology*, 479(1-3), 23-40.
- Rozin, P. & Kalat, J. W. (1971). Specific hungers and poison avoidance as adaptative specialization of learning. *Psychological Review*. 78(6), 459-486.
- Russo, S. J. & Nestler, E. J. (2013). The brain reward circuitry in mood disorders. *Nature Reviews Neurociencie*, 14(9), 609-625.
- Sánchez-López, A., Centurion, D., Lozano-Cuenca, J., Muñoz-Islas, E., Cobos-Puc, L. E. & Villalón, C. M. (2009). Receptores de la serotonina que inhiben el tono sináptico vasopresor en la rata descerebrada y desmedulada. *Archivos de cardiología de México*, 79(2), 83-94.
- Sari, Y., Miquel, M. C., Brisorqueil, M. J., Ruiz, G., Doucet, E., Hamon, M. & Vergé, D. (1999). Cellular and subcellular localization of 5-hydroxytryptamine<sub>1B</sub> receptors in the rat central nervous system: immunocytochemical, autoradiographic and lesion studies. *Neuroscience*, 88(3), 899-915.
- Sasaki, J. E., Tatham, T. A. & Barret, J. E. (1995). The discriminative stimulus effects of methamphetamine in pigeons. *Psychopharmacology*, 120(3), 303-310.
- Schreiber, R., Brocco, M., Lefèbvre de Ladonchamps, B., Monneyron, S. & Millan, M. J. (1995). A drug discrimination analysis of the actions of novel serotonin<sub>1A</sub> receptor ligands in the rat using the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist, 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 275(2), 822-831.
- Serres, F., Li, Q., Garcia, F., Raap, D. K., Battaglia, G., Muma, N. A. & Van de Kar, L. D. (2000). Evidence that Gz-proteins couple to hypothalamic 5-HT<sub>1A</sub> receptors in vivo. *Journal of Neurociencie*, 20(9), 3095-3103.
- Siegel, G. J., Agranoff, B. W., Albers, R. W., Fisher, S. K. & Uhler, M. D. (1999). *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. Philadelphia: Elsevier Academic Press.

- Stamford, J. A., Davidson, C., McLaughlin, D. P. & Hopwood, S. E. (2000). Control of dorsal raphe 5-HT function by multiple 5-HT(1) autoreceptors: parallel purposes or pointless plurality? *Trends in Neurosciences*, 23(10), 459-465.
- Törk, I. (1990). Anatomy of the serotonergic system. *Annals of the New York Academy of Science*, 8, 9-35.
- Tricklebank, M. D., Middlemiss, D. N. & Neill, J. (1986). Pharmacological analysis of the behavioural and thermoregulatory effects of the putative 5-HT1 receptor agonist, RU 24969, in the rat. *Neuropharmacology*, 25(8), 877-886.
- Tritsch, N. X., Ding, J. B. & Sabatini, B. L. (2012). Dopaminergic neurons inhibit striatal output through non-canonical release of GABA. *Nature*, 490, 262-266.
- Van Bockstaele, E. J., Cestari, D. M. & Pickel, V. M. (1994). Synaptic structure and connectivity of serotonin terminals in the ventral tegmental area: potential sites for modulation of mesolimbic dopamine neurons. *Brain Research*, 647(2), 307-322.
- Van Zessen., R., Phillips, J. L., Budygin, E. A. & Stuber, G. D. (2012). Activation of VTA GABA neurons disrupts reward consumption. *Neuron*. 73(3), 1184-1194
- Vashchinkina, E., Panhelainen, A., Aitta-Aho, T. & Korpi, E. R. (2014). GABAA receptor drugs and neuronal plasticity in reward and aversion: focus on the ventral tegmental area. *Frontiers in Pharmacology*. 5(256), 1-12.
- Vergé, D. & Hamon, M. (1997). Antibodies for the study of serotonin receptors in the central nervous system. Serotonin ID. *Current Drugs*, 2, 409-419.
- Vertes, R. P. (2006). Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience*, 142, 1-20.
- Walsh, S. L. & Cunningham, K. A. (1997). Serotonergic mechanisms involved in the discriminative stimulus, reinforcing and subjective effects of cocaine. *Psychopharmacology*, 130, 41-58.
- Westerink, B. H., Kwint, H. F. & DeVries, J. B. (1996). The pharmacology of mesolimbic dopamine neurons: a dual-probe microdialysis study in the

- ventral tegmental area and nucleus accumbens of the rat brain. *The Journal of Neuroscience: The official Journal of the Society for Neuroscience*. 16(8), 2605-2611.
- Wise, R. A. & Bozarth, M. A. (1982). Action of drugs of abuse on brain reward systems: an update with specific attention to opiates. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 17(2), 239-243.
- Wise, R. A. (2002). Brain reward circuitry: insights from unsensed incentives. *Neuron*. 36(2), 229-240.
- Witkin, J. M. (1994). Pharmacotherapy of cocaine abuse: preclinical development. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 18, 121-142.
- Written, I.B., Steinberg, E. E., Lee, S. Y., Davidson, T. J., Zalocusky, K. A., Brodsky, M., Yizhar, O., Cho, S. L., Gong, S., Ramakrishnan, C, Stuber, G. D., Tye, K. M., Janak, P. H. & Deisseroth, K. (2011). Recombinase-driver rat lines: tools, techniques, and optogenetic application to dopamine-mediated reinforcement. *Neuron*, 72(5), 721-733.
- Yan, Q. S. & Yan, S. E. (2001a). Activation of 5-HT<sub>1B/1D</sub> receptors in the mesolimbic dopamine system increases dopamine release from the nucleus accumbens: a microdialysis study. *European Journal Pharmacology*, 418(1-2), 55-64.
- Yan, Q. S. & Yan, S. E. (2001b). Serotonin-<sub>1B</sub> receptor-mediated inhibition of [3H]GABA release from rat ventral tegmental area slices. *Journal Neurochemistry*. 79(4), 914-922.
- Yan, Q. S., Zheng, S. Z. & Yan, S. E. (2004). Involvement of 5-HT<sub>1B</sub> receptors within the ventral tegmental area in regulation of mesolimbic dopaminergic neuronal activity via GABA mechanisms: a study with dual-probe microdialysis. *Brain Research*, 1021, 82-91.
- Yan, Q. S., Zheng, S. Z., Feng, M. J. & Yan, S. E. (2005). Involvement of 5-HT<sub>1B</sub> receptors within the ventral tegmental area in ethanol-induced increases in mesolimbic dopaminergic transmission. *Brain Research*, 1060(1-2), 126-137.
- Yocca, F. D., Iben, L. & Meller, E. (1992). Lack of apparent receptor reserve at postsynaptic 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptors negatively coupled to

adenylyl cyclase activity in rat hippocampal membranes. *Molecular Pharmacology*, 41(6), 1066-1072.

Yoshimoto, K. & McBride, W. J. (1992). Regulation of nucleus accumbens dopamine release by the dorsal raphe nucleus in the rat. *Neurochemical Research*, 17(5), 401-407.

Young, R., Bondareva, T., Wesolowska, A. & Glennon, R. A. (2006). Modulation of a (+)amphetamine discriminative stimulus in rats by 8-hydroxy-2-(N,N-di-n-propylamino)tetralin (8-OH DPAT). *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 83(4), 612-617.