



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

VALORACIÓN DEL PAPEL DE LOS MODULADORES ALOSTÉRICOS POSITIVOS DE  
LOS RECEPTORES GABA<sub>B</sub> EN LA SENSIBILIZACIÓN INDUCIDA POR ANFETAMINA

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

**DOCTORA EN PSICOLOGÍA**

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

**LAURA NAYELI CEDILLO ZAVALETA**

TUTOR PRINCIPAL

DR. FLORENCIO MIRANDA HERRERA  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

DRA. SARA EUGENIA CRUZ MORALES  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

DR. ALONSO FERNÁNDEZ GUSTI  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN PSICOLOGÍA

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

DR. BENJAMÍN FLORÁN GARDUÑO  
CINVESTAV ZACATENCO, DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA, BIOFÍSICA Y NEUROCIENCIAS

MÉXICO, D. F. NOVIEMBRE 2013



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.

*Yo nací para mirar lo que pocos quieren ver...*

*Charly García*

## **Agradecimientos**

### **A mis padres**

*Por ser el principio de mi todo. Porque sé que me quisieron sin que hiciera nada y me querrán a pesar de todo. Porque me guiaron y me inspiraron hasta este punto. Porque siempre tuvieron el consejo más oportuno. Los amo.*

### **A mis hermanos, Rodrigo y Alejandro**

*Por acompañarme siempre, por inspirarme a ser la mejor hermana mayor que he podido. Por abrazarme, por quererme, por protegerme. Los amo.*

### **A mis abuelos, Enrique y Pedro, Carmela y Consuelo...**

*Sin ustedes no habría nada. Gracias por mi familia.*

### **Tía Teresa**

*Tu apoyo será invaluable toda mi vida, como lo ha sido siempre. Gracias por leerme, por enseñarme tantas cosas valiosas, como el tiempo. Gracias por las palabras y el abrazo cuando hizo falta seguir adelante.*

### **Tíos y tías... Ana, Lilia, Angélica, Martha, Irma, Bety, Héctor, Enrique, Pedro, Arturo**

*Todos me han hecho sentir única, todos me han apoyado en algún momento. A todos los quiero mucho.*

### **Dr. Florencio**

*Aquí el resultado de su esfuerzo. Gracias por los diez años de camino, por el apoyo, conocimiento, tolerancia, paciencia; por enseñarme a mirar el mundo a través de la ciencia, por la amistad. Gracias también a Ivonne por recibirnos, aconsejarnos y apoyarnos los mismos 10 años.*

**Dr. Benjamín Florán**

*Gracias por su apoyo y sabios consejos cuando más falta hizo. Claro, gracias por su contribución a esta tesis.*

**Dra. Sara Cruz, Dr. Alonso Fernández Guasti, Dr. Pedro Arriaga**

*Gracias por haber confiado en mí en todo momento. Por la invaluable aportación que hicieron a mi formación con su experiencia. El aprendizaje que propiciaron me ha cambiado la perspectiva y será la base de muchas cosas.*

**Alma, Juan Carlos, Isela, Paty**

*Que equipo! Sin ustedes nada. Gracias por crecer conmigo, por impulsarme. Por mejorar mi trabajo mientras se también se preocupaban por el suyo.*

**A Lalo**

*Gracias por darle color a esta etapa, por las luciérnagas que hiciste nacer en mis ojos: por los momentos, por las palabras de aliento, por los abrazos, por los poemas, por todas las palabras y gestos de amor, por la compañía que hizo que este camino no fuera una línea recta. Te amo.*

**A mis primos, amigos y amigas**

*Gracias por su amistad, su compañía cuando hizo falta, su hombro para desahogarme, por su consejo; todo habría sido mucho más difícil sin ustedes. Luis, Aarón, Arturo, Juan, Julio, Charly, Andy, Pablo, Faby, Emilio, Pepe, Nancy, Lety, Germán, Rocío, Elizabeth, Miguel, Lore...*

## INDICE

ABREVIATURAS	07
DROGAS ADICTIVAS	09
SISTEMA DE LA RECOMPENSA CEREBRAL	11
Sistema DAérgico	16
Ciclo de vida de la DA	16
Receptores DAérgicos	18
▪ Familia de receptores $D_{1-like}$	19
▪ Familia de receptores $D_{2-like}$	20
▪ Regulación de la DA	22
▪ Vías de la DA	23
▪ Funciones asociadas a la DA	25
▪ La DA y el efecto reforzante de las drogas adictivas	26
▪ Mecanismo neurobiológico de los psicoestimulantes	29
▪ Sistemas de neurotransmisión moduladores de la DA	30
ÁCIDO $\gamma$ -AMINO BUTÍRICO	32
Identificación y evolución a neurotransmisor	32
Ciclo del GABA	34
Localización del GABA en el SNC y SNP	38
▪ Vías GABAérgicas en el SNC	38
▪ Vías GABAérgicas en el SNP	40
Receptores GABAérgicos: $GABA_A$ , $GABA_C$ y $GABA_B$	40
▪ Receptores ionotrópicos $GABA_A$ y $GABA_C$	40
▪ Receptores metabotrópicos $GABA_B$	44
<i>Estructura</i>	45
<i>Vías de señalización</i>	47
<i>Relevancia clínica</i>	48

PAPEL DE LOS RECEPTORES GABA <sub>B</sub> EN LOS EFECTOS CONDUCTUALES DE LOS PSICOESTIMULANTES	51
Evidencia sobre la participación de los receptores GABA <sub>B</sub> en la adicción a los psicoestimulantes	51
Evidencia sobre la participación de los moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA <sub>B</sub> en la adicción a los psicoestimulantes	52
MÉTODOS CONDUCTUALES PARA EL ESTUDIO DE LA NEUROBIOLOGÍA DE LAS ADICCIONES	56
Métodos conductuales	56
▪ Sensibilización motora	57
<i>Concepto</i>	57
<i>La sensibilización motora como método para el estudio del mecanismo neurobiológico de las adicciones</i>	57
<i>Parámetros que afectan el desarrollo de sensibilización motora</i>	58
<i>Mecanismo neurobiológico de la sensibilización</i>	60
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	63
Hipótesis	64
OBJETIVO GENERAL	65
Objetivos específicos	65
MÉTODO GENERAL	67
EXPERIMENTO 1	
Grupos control necesarios	72

## EXPERIMENTO 2

Evaluación de los efectos del antagonista D2 racloprida sobre el desarrollo y expresión de sensibilización motora inducida por ANF 80

## EXPERIMENTO 3

Evaluación de los efectos de la administración conjunta de una dosis baja de baclofen y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre el desarrollo de sensibilización motora 88

## EXPERIMENTO 4

Evaluación de los efectos de la administración conjunta de una dosis baja de baclofen y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre la expresión de sensibilización motora 100

DISCUSIÓN GENERAL 111

REFERENCIAS 117

## **ABREVIATURAS**

**5-HT.** Serotonina

**AADC.** Aminoácido aromático descarboxilasa

**ANF.** Anfetamina

**ATV.** Área Tegmental Ventral

**BDZs.** Benzodiacepinas

**COMT.** Enzima catecol-O-metiltransferasa

**CPF.** Corteza prefrontal

**DA.** Dopamina

**DAT.** Transportador de la dopamina

**DOPAC.** Ácido dihidroxifenilacético

**GABA.** Ácido  $\gamma$ -aminobutírico

**GAD.** Ácido glutámico descarboxilasa

**GHB.**  $\gamma$ -hidroxibutirato

**Glu.** Glutamato

**HPM.** Haz prosencefálico medial

**HVA.** Ácido homovanílico

**Ip.** Intraperitoneal

**Iv.** Intravenosa

**MAO.** Monoaminoxidasa forma A

**NAcc.** Núcleo Accumbens

**PKA.** Proteína kinasa A

**SNC.** Sistema Nervioso Central

**SNP.** Sistema Nervioso Periférico

**TEP.** Tomografía por Emisión de Positrones

**TH.** Tirosina Hidroxilasa

## DROGAS ADICTIVAS

La adicción a las drogas es un desorden crónico y recurrente cuyas características principales son un consumo compulsivo, la pérdida de control en su consumo y la emergencia de un estado emocional negativo cuando no se tiene acceso a la sustancia (Koob & Le Moal, 2006). Actualmente se considera que este padecimiento es un problema de salud pública que precisa atención prioritaria ya que, además de las cifras elevadas, existe una tendencia en aumento. Al respecto, la Oficina contra la Droga y el Delito de la ONU (Office on Drugs and Crime, 2012) ha informado que cada año un importante porcentaje de la población mundial consume drogas ilícitas (aproximadamente el 5%), y a pesar de que se estima que existen 27 millones de personas que pueden ser consideradas toxicómanas agudas, sólo el 20% de éstas recibe tratamiento. En México, el Consejo Nacional Contra las Adicciones (CONADIC, 2003) reporta que el porcentaje de la población entre los 12 y 65 años que ha usado drogas ilegales y médicas, ha aumentado del 5% en el 2002 al 5.7% en el 2008, además de otros notorios cambios en los patrones de consumo como la reducción en la edad de inicio del consumo de drogas, el incremento en grupos estudiantiles y una presencia cada vez mayor en estratos poblacionales que se habían mantenido al margen, como mujeres y habitantes de zonas rurales (CONADIC, 2003). Aunque la Encuesta Nacional de Adicciones realizada en el 2011 (CONADIC, 2012) no brinda este importante dato, reporta que en el año previo a su realización, aproximadamente el 1.8% de la población consumió alguna droga ilícita, lo que representa un incremento no significativo con respecto al 2008 (1.6%). Las estadísticas de esta última encuesta en nuestro país, también indican que las drogas de mayor consumo son la marihuana, en primer lugar, y la cocaína en segundo, ésta última con un fuerte incremento de consumo de 0.3% en el 2002 a 1.2% en el 2011. Aunque el consumo de otras drogas se mantiene en índices inferiores, es importante mencionar que el consumo de las metanfetaminas también aumentó 6 veces del 2002 al 2008, manteniéndose estas cifras del 2008 al 2011.

Debido a las alarmantes cifras, es cada vez más importante llevar a cabo investigaciones que permitan entender y proponer nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de las adicciones desde diferentes aristas. Entre estos esfuerzos un componente clave es la comprensión del fenómeno desde las neurociencias, es decir la atención al proceso neurobiológico que conlleva a la adicción. En este sentido, las investigaciones han arrojado datos que proponen y sustentan que el sistema de la recompensa es el componente básico del efecto reforzante de las drogas adictivas mediante el cual, es posible el desarrollo y mantenimiento de una adicción.

## **SISTEMA DE LA RECOMPENSA CEREBRAL**

Una parte fundamental para comprender el fenómeno de cualquier tipo de adicción a nivel neurobiológico es la comprensión del sistema de la recompensa cerebral. Éste sistema fue descubierto en los años 50's del siglo pasado y aunque no fue reportado inmediatamente dio pie a muchas investigaciones y fue tan importante que los detalles fueron narrados a posteriori.

La década de los 50's fue una etapa en la que gran parte de la psicología giraba en torno a los puntos de vista de Clark Hull y B. F. Skinner para quienes no era necesario hipotetizar sobre procesos internos, mentales o emocionales. Sin embargo, existían propuestas alternativas a este conductismo radical como la de Edwin Tolman, quien proponía un mayor énfasis en la información que debía ser procesada para que se generara la experiencia ante eventos significativos (Best, 2006). Este punto de vista y la publicación del libro "The organization of behavior" de Donald Hebb, influenciaron al Dr. James Olds, quien en 1953 solicitó una beca posdoctoral en el laboratorio de Hebb en la Universidad de McGill en Canadá, para establecer la caracterización neural de la teoría de la "Gestalt-signo" de Tolman, teniendo claro que las teorías psicológicas debían derivarse de la función del sistema nervioso central (SNC). En McGill, el encargado de mostrar a Olds el trabajo de laboratorio fue Peter Milner, quien se encontraba estudiando el efecto de la estimulación eléctrica del cerebro de los animales sobre la conducta (Milner, 1989). A finales de 1953, Milner introdujo a Olds en una técnica que el mismo usaba; la implantación de electrodos hechos a partir de agujas para insulina y cemento dental, ya que Olds se había interesado en la activación del sistema reticular (Thompson, 1999). Al poco tiempo, Olds hizo sus propios electrodos con características distintas y precisamente esos cambios fueron los que hicieron que un electrodo cuyo objetivo era el tegmentum (porción del mesencéfalo situado abajo del tectum), quedara localizado en el área septal. Aunque originalmente el objetivo del trabajo era determinar los rangos en que la estimulación eléctrica afectaba el aprendizaje (Olds, 1956), uno de los electrodos de este experimento

se desvió, llevando a Olds a encontrar que podía controlar la conducta de su rata de forma excepcional. Olds observó que al aplicar las descargas eléctricas de forma sistemática, podía dirigir a la rata hacia cualquier área. Contrario a la aversión esperada debido a la descarga, la rata se dirigía y husmeaba en la dirección en que la corriente fuera encendida, y se detenía o regresaba cuando la corriente era apagada (Milner, 1989). El primer experimento que Olds y Milner dirigieron al estudio de este fenómeno fue una recreación del descubrimiento. En el estudio, colocaron en una caja rectangular a una rata previamente operada para la implantación del electrodo que le permitiría recibir la estimulación eléctrica. Cuando la rata se aproximaba a una de las esquinas (digamos la esquina A), se le aplicaba una descarga eléctrica lo suficientemente fuerte para ser percibida por la rata, pero no tanto como para afectar la conducta. En cambio, cuando la rata se aproximaba a la esquina contraria (esquina B), no recibía estimulación. Lo que observaron fue que la rata regresaba una y otra vez a la esquina A, después iba a otra esquina y se quedaba dormida. A lo largo de los siguientes días comprobaron que por medio de la estimulación eléctrica podían llevar a la rata en cualquier dirección y hacer que permaneciera ahí o en algún punto específico de un laberinto en T. La búsqueda de la estimulación eléctrica se presentaba incluso en ratas con periodos de 24 horas de privación de alimento, lo que les indicó que la estimulación eléctrica tenía un poderoso efecto como reforzador (Olds, 1956). Posteriormente, con el fin de comprobar si la rata era capaz de autoadministrarse la estimulación eléctrica, construyeron una caja de Skinner y observaron que la rata aprendió rápidamente a oprimir la palanca para autoestimularse el cerebro por medio de la cánula que había sido implantada (Milner, 1989).

Los primeros intentos de réplica realizados por Olds y Milner no tuvieron éxito ya que no se obtenían los mismos resultados al implantar los electrodos en el tegmentum, sitio en que creían que se encontraba el electrodo, por lo que comenzaron a sospechar que se encontraba en otra parte. Olds se negaba a sacrificar a su rata para comprobar donde había quedado el electrodo, por lo que se les ocurrió llevarla a la unidad de cirugía experimental para obtener esta

información mediante una máquina de rayos X. Nunca se obtuvo una confirmación histológica pero les quedó claro que el electrodo había sido implantado varios milímetros delante de la posición que había sido planeada, probablemente cerca del área septal o anterior al hipotálamo. Poniendo los electrodos en el área septal pudieron comenzar a reproducir los experimentos. Olds comenzó el trabajo empleando la autoestimulación, método que les permitía contabilizar el deseo del animal en términos de la frecuencia con que se autoadministraba las descargas eléctricas. Usando este método, observó que la rata estimulaba su cerebro regularmente y permanecía así largo rato. Aún cuando la corriente era apagada, la rata continuaba emitiendo respuestas cerca de 7 min más, pasados los cuales se iba a dormir. Este patrón podía ser observado cuantas veces se intentara (Olds, 1956). En un estudio realizado posteriormente, Olds y Milner (1954) comenzaron a explorar las distintas áreas en las que la estimulación eléctrica podía producir un efecto reforzante. Para ello emplearon cajas de Skinner en las que las ratas podían autoestimularse y, encontraron que existen numerosos sitios en los que la estimulación eléctrica resulta reforzante. Los sitios cuya estimulación resultó en un mayor número de respuestas fueron el área septal, la corteza cingulada y el tracto mamilotalámico, por lo que éstas y otras áreas adquirieron el nombre de “estructuras reforzantes”. Se encontró también que existen áreas en las que la estimulación si posee características de castigo y zonas neutrales como el cuerpo calloso o el núcleo caudado, en las que las ratas no hacen nada por obtener ni evitar la estimulación eléctrica. Pronto demostraron que la estimulación eléctrica de varias áreas del cerebro anterior, principalmente las relacionadas con el hipotálamo, induce una variedad de conductas consumatorias como comer, beber, sexo, anidamiento y conducta parental (Best, 2006).

En 1955 Olds dejó el laboratorio de Hebb y comenzó a trabajar en el laboratorio de H. W. Magoun y D. B. Lindsley en la Universidad de California en Los Angeles (UCLA). Ahí, continuó con el mapeo de los puntos cerebrales en que la estimulación eléctrica produce efectos recompensantes. Con sus estudios mostró que la recompensa producida por estimulación eléctrica podía exceder por

mucho a la recompensa producida por la motivación biológica natural, por lo que comenzó a estudiar la relación entre ambos tipos de recompensa (Best, 2006).

Tiempo después, se hizo claro que el método para la implantación de electrodos diseñado por Olds resultó ser más rápido, fácil, y por tanto superior al anterior método del cemento dental, por lo que eventualmente se convirtió en el método utilizado hoy en día. Adicionalmente, Olds diseñó una batería de cajas de Skinner con las características necesarias para llevar a cabo sus experimentos, eliminando los inconvenientes de las cajas tradicionales que no permitían medir el efecto de la estimulación aversiva. Dado que el contar cada respuesta de todos los experimentos que llegó a realizar le hubiera llevado años, comenzó a medir la autoestimulación contabilizando el tiempo que las ratas pasaban presionando la palanca, basado en un criterio que consideraba la tasa de respuestas. Para entonces, a pesar del riesgo que corría de que consideraran sus palabras como una explicación más que como una descripción, Olds comenzó a referirse al sistema como “centro del placer”. Poco después surgió entre ellos la posibilidad de que el sistema podría ser activado normalmente por la alimentación, el sexo y otras conductas. Entonces, el primer estudiante graduado de Olds, Rolf Morrison, comenzó a investigar el efecto del hambre sobre la autoestimulación y viceversa (Milner, 1989).

Con el paso del tiempo se volvió clara la importancia del papel que el sistema de la recompensa juega en relación a conductas como la alimentación, el sexo y la adicción a las drogas. Además, comenzaron a definirse más áreas que actualmente son incluidas en el sistema de la recompensa, y cuya estimulación eléctrica intracraneal en animales puede ser reforzante. Entre estas áreas se encuentran distintas partes del encéfalo como el bulbo olfatorio, la corteza prefrontal (CPF), el núcleo accumbens (NAcc), los núcleos caudado y putamen, varios núcleos talámicos, la formación reticular, la amígdala, el área tegmental ventral (ATV), la sustancia negra y el locus coeruleus (Olds & Fobes, 1981).

Aunque actualmente se reconoce que en el sistema de la recompensa participan

diversas estructuras (Figura 1), el área más importante y mejor caracterizada es el haz prosencefálico medial (HPM). Éste atraviesa el hipotálamo lateral, sitio en que la mayoría de los investigadores implantan los electrodos de estimulación, y que contiene axones ascendentes DAérgicos, noradrenérgicos y serotoninérgicos. En particular se sabe que las neuronas DAérgicas tienen una función especialmente importante en el refuerzo (Carlson, 1993), por ello, la claridad en el funcionamiento del sistema de la DA es fundamental al tratar temas relacionados con el sistema de la recompensa y sus implicaciones.

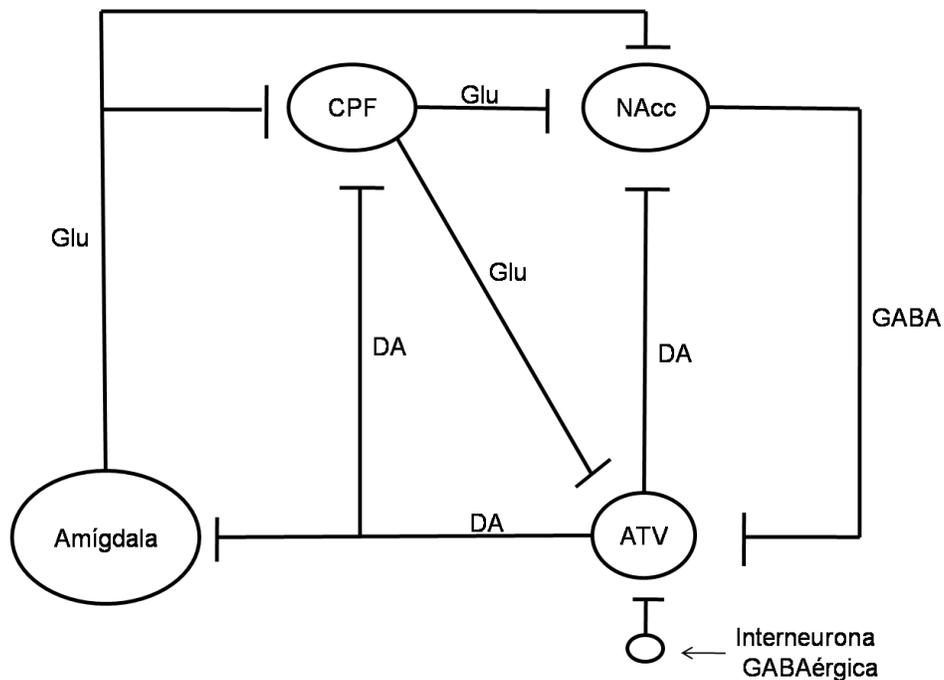


Figura 1. Principales componentes del sistema de la recompensa.

## **Sistema DAérgico**

Hoy en día se sabe que la DA es la catecolamina más importante en el SNC, así como el neurotransmisor más importante del sistema de la recompensa, y está compuesta por un grupo catecol y una cadena de etilamina o alguno de sus derivados. Además, la DA también está presente en el SNP en donde funciona como modulador de la función cardíaca y renal, del tono vascular y de la motilidad gastrointestinal.

En un inicio, la 3 amino-hidroxitiramina (DA), fue identificada como un intermediario en la síntesis de noradrenalina y adrenalina a partir de la tirosina. Se sabía que existía un nivel significativo de DA en algunos órganos periféricos de ruminantes, pero fue hasta los años 50's que las investigaciones apuntaron a consolidar a la DA como neurotransmisor además de su papel como precursor en la síntesis de otras catecolaminas (Björklund & Dunnett, 2007a). Como un primer paso en este sentido, Carlsson, Falck y Hillarp fueron los primeros en descubrir a la DA en sistemas neuronales en el cerebro (Iversen & Iversen, 2006; Björklund y Dunnett, 2007b) en donde se encontraba en concentraciones iguales a las de la norepinefrina pero en distribuciones diferentes. Para los años 60's, la investigación sobre la DA ya había superado en gran número a la hecha con otros neurotransmisores entonces clásicos, como la noradrenalina, serotonina (5-HT) y acetilcolina.

### **Ciclo de vida de la DA**

La DA se sintetiza a partir de su precursor L-Tirosina en las terminales DAérgicas, sitio en que se encuentran las enzimas involucradas en el proceso en concentraciones altas (Cooper, Bloom & Roth, 2003). La enzima Tirosina Hidroxilasa (TH), una oxidasa que utiliza L-tirosina y oxígeno como sustratos y tetrahidrobiopterina (BH<sub>4</sub>) como cofactor, actúa sobre la L-Tirosina adicionándole un grupo hidroxilo (Nagatsu, 1981) de esta forma la L-Tirosina se convierte en L-

DOPA (o L-3,4-dihidroxifenilalanina). La L-DOPA a su vez, es transformada en DA debido a la acción de la enzima descarboxilasa de aminoácidos aromáticos o L-DOPA descarboxilasa (Figura 2). A diferencia de la TH, la L-DOPA descarboxilasa no constituye un factor limitante en la síntesis de las catecolaminas. Además no es específica para la L-DOPA, ya que puede descarboxilar a otros aminoácidos, por lo que también se le denomina aminoácido aromático descarboxilasa (AADC), y no solamente existe en las neuronas catecolaminérgicas sino también en otras neuronas.

Dado que los niveles de L-DOPA son normalmente bajos, la formación de DA puede aumentar administrándose la L-DOPA. Sin embargo, dado que los niveles de tirosina en el cerebro están por arriba de la  $K_m$  (constante de Michaelis-Menten) de la TH, en condiciones normales no es posible aumentar la síntesis de DA por medio del incremento directo del precursor (Cooper et al., 2003).

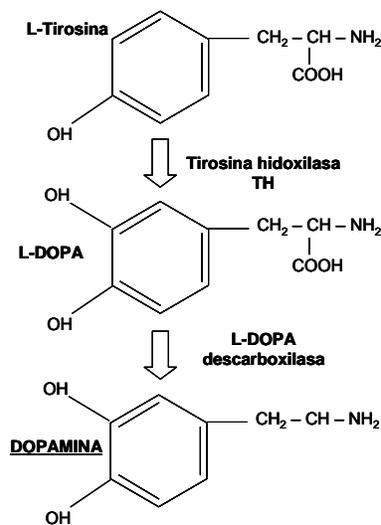


Figura 2. Proceso de la síntesis de la DA a partir de L-Tirosina por la acción de la tirosina hidroxilasa y la L-DOPA descarboxilasa. Fig. 4 Muestra el proceso de la síntesis de la DA a partir de L-Tirosina por la acción de la tirosina hidroxilasa y la L-DOPA descarboxilasa

Una vez sintetizada en el citoplasma de las terminales DAérgicas, la DA puede ser liberada directamente al espacio sináptico o bien ser transportada al interior de las vesículas sinápticas para ser liberada por exocitosis. En la liberación por exocitosis la DA contenida vesiculadamente es liberada al exterior al fusionarse la membrana vesicular con la membrana de la terminal presináptica.

Aunque existen enzimas extraneuronales que catabolizan la DA, la terminación del efecto del neurotransmisor se debe principalmente a los transportadores presinápticos. Éstos sitios de recaptura de DA de alta afinidad ubicados en las terminales nerviosas, denominados como transportadores de la DA (DAT), son proteínas de 619 aminoácidos con 12 dominios transmembranales y pertenecen a los transportadores de membrana dependientes de  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  (Cooper et al., 2003). La DA recapturada es convertida por la enzima monoaminooxidasa, en particular por la forma A (MAO-A) presente en el interior de la terminal nerviosa, en ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) el cual es liberado al exterior de la terminal para ser convertido en ácido homovanílico (HVA) por la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT). La DA no recapturada por la terminal DAérgica también es metabolizada a HVA por la acción secuencial de las enzimas COMT y MAO-A. En el cerebro de la rata el principal metabolito de la DA es el DOPAC, mientras que en el cerebro de los primates es el HVA (Cooper et al., 2003).

## **Receptores DAérgicos**

Los receptores DAérgicos se encuentran distribuidos ampliamente en diversas áreas del SNC, aunque en distintas densidades dependiendo del subtipo, y son responsables de las diversas acciones fisiológicas de la DA. La acción de la DA sobre las células blanco depende del tipo de receptor presente en ellas. De acuerdo con sus características moleculares se han descrito 5 subtipos de receptores a DA, todos ellos acoplados a las proteínas G y divididos en dos familias farmacológicas denominadas  $D_{1\text{-like}}$  y  $D_{2\text{-like}}$ . Los receptores de la familia

$D_{1\text{-like}}$  (subtipos  $D_1$  y  $D_5$ ), están acoplados a proteínas Gs 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 kinasa dependiente de AMPc (proteína kinasa A, PKA), y a la fosforilación de la DARPP-32. La activación de la PKA tiene como resultado la apertura de canales de  $Ca^{2+}$ , 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  $D_2$  (Cooper et al., 2003). 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, por lo que la activación de los receptores  $D_{2\text{-like}}$  produce una hiperpolarización de la neurona.

#### *Familia de receptores $D_{1\text{-like}}$*

Como ya se dijo, la familia de receptores DAérgicos  $D_{1\text{-like}}$  se encuentra formada por los subtipos de receptor  $D_1$  y  $D_5$ . Ésta familia de receptores se diferencian de los receptores pertenecientes a la familia  $D_{2\text{-like}}$  en que tienen una región carboxilo terminal aproximadamente 7 veces más larga y en que estimulan la formación de AMPc (Bahena-Trujillo, Flores & Arias-Montaño, 2000).

El subtipo  $D_1$  es el receptor DAérgico más abundante en el SNC, se trata de una proteína de 446 aminoácidos y su estructura presenta siete dominios transmembranales (Feldman, Meyer & Quenzer, 1996). Se encuentra en altas concentraciones en el tubérculo olfatorio, el neoestriado, el NAcc, las islas de Calleja, la amígdala, el núcleo subtalámico, la sustancia negra (reticulada y compacta) y el cerebelo, mientras que en concentraciones más bajas también puede ser localizado en la corteza cerebral (frontal, entorrinal y el cíngulo), el tálamo y el globo pálido. Finalmente también se encuentra, aunque en muy baja concentración, en la formación hipocampal, la región septal, el hipotálamo, el ATV y el colículo inferior (Bahena-Trujillo et al., 2000). Los agonistas más usados y con

alta afinidad para los receptores D<sub>1</sub>, son parte de la familia de agonistas de 1-fenil-tetrahydrobenzazepinas, incluyendo el SKF38393 y otros similares como el SK81297, SKF82958 y SKF82536. Los antagonistas más potentes son el A 68930, y el A 77636.

Por otro lado, el receptor D<sub>5</sub> tiene una relativa homología en las secuencia de aminoácidos con el receptor D<sub>1</sub> y perfiles farmacológicos similares, aunque en los humanos el receptor D<sub>5</sub> posee una afinidad más alta por la DA que el receptor D<sub>1</sub> (Feldman et al., 1996). La localización del receptor D<sub>5</sub> se limita al hipocampo y a los núcleos lateral mamilar y parafascicular del tálamo (Bahena-Trujillo et al., 2000). Debido a sus semejanzas, los llamados agonistas y antagonistas selectivos para los D<sub>1</sub> afectan también a los receptores D<sub>5</sub>.

#### *Familia de receptores D<sub>2-like</sub>*

Los subtipos D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> y D<sub>4</sub> pertenecientes a esta familia, poseen un asa citoplasmática intracelular muy larga (i3), la cual parece ser típica de los receptores que inhiben a la adenililciclase mediante la proteína G<sub>ai</sub>. La vía de señalización de esta familia de receptores implica, además de la inhibición de la adenililciclase, la inhibición en la conductancia de Ca<sup>2+</sup>, el aumento en la conductancia de K<sup>+</sup> y la modulación del metabolismo del fosfoinositol (Bahena-Trujillo et al., 2000).

El receptor D<sub>2</sub> fue detectado por su alta afinidad por las drogas antipsicóticas (neurolépticos) y porque a diferencia de los receptores D<sub>1</sub>, los receptores D<sub>2</sub> inhiben a la adenililciclase o no tienen efecto sobre ella. A la fecha, se ha reportado la existencia de dos isoformas del receptor D<sub>2</sub> que varían en la presencia o ausencia de un tramo de 29 aminoácidos localizados en la tercer asa citoplasmática del receptor. Estas formas han sido denominadas D<sub>2l</sub> y D<sub>2s</sub>, sin embargo, no se han detectado diferencias farmacológicas o funcionales importantes (Feldman et al., 1996). Este subtipo de receptor ha sido detectado en

densidades altas en el neostriado (neuronas GABAérgicas estriadopalidales), el tubérculo olfatorio, la capa molecular de la formación hipocampal, el NAcc, las islas de Calleja y el ATV. En concentraciones moderadas está ubicado en la sustancia negra reticulada y compacta (como autorreceptor somatodendrítico), la corteza cerebral (regiones prefrontal, entorrinal y cíngulo), el globo pálido, la amígdala, el tálamo, el hipotálamo y el núcleo subtalámico. Los receptores D<sub>2</sub> se encuentran acoplados a proteínas G del tipo G<sub>ai</sub> o G<sub>ao</sub>, lo que conduce a la inhibición de la adenililciclase y consecuentemente del AMPc. También modulan corrientes iónicas, en particular las activadas por voltaje, inhibiendo canales de Ca<sup>2+</sup> (efecto presumiblemente mediado por proteínas G<sub>ao</sub>) o facilitando la apertura de canales de K<sup>+</sup> mediante proteínas G<sub>i3</sub> (Bahena-Trujillo et al., 2000). En cuanto a su farmacología, se han desarrollado diversos agonistas y antagonistas para los receptores D<sub>2</sub>, por ejemplo, los agonistas bromocriptina, LY-171555 y apomorfina. Los antipsicóticos clásicos son antagonistas de los receptores D<sub>2</sub>, como el haloperidol, pimozida, racloprida y sulpirida (Feldman et al., 1996).

El receptor D<sub>3</sub> tiene una farmacología similar a la de los receptores D<sub>2</sub>, sin embargo tienen algunas variaciones: por ejemplo, el compuesto 7-OH-DPAT es más selectivo para el receptor D<sub>3</sub> en estudios de ligando. Este subtipo de receptor puede ser encontrado en concentraciones altas en las islas de calleja, la región septal, los núcleos geniculados medial y lateral del tálamo, el núcleo mamilar medial del hipotálamo y en las células de Purkinje del cerebelo. En concentraciones medias se encuentra en la corteza parietal y temporal, la formación hipocampal, el bulbo olfatorio, el neostriado, el NAcc, la amígdala, el núcleo subtalámico, la oliva inferior y los lóbulos anterior e intermedio de la hipófisis, y se han encontrado niveles mínimos en la sustancia negra compacta, el ATV, la corteza frontal, el cíngulo y el globo pálido (Bahena-Trujillo et al., 2000).

Finalmente, el receptor D<sub>4</sub> se encuentra en densidades altas en la corteza frontal, el bulbo olfatorio, la amígdala, el mesencéfalo y la retina. Densidades

intermedias se observan en el neocórtex, mientras que densidades bajas o apenas detectables han sido reportadas en el hipotálamo y el hipocampo (Bahena-Trujillo et al., 2000).

### *Regulación de la DA*

Regulación por autorreceptores. Los autorreceptores juegan un papel primordial en la regulación de la liberación de DA, lo que implica que la síntesis y liberación de DA es fuertemente influenciada por la actividad de la misma DA. Las terminales DAérgicas poseen autorreceptores pertenecientes a la familia  $D_2$  cuya activación reduce la liberación de la DA. Los autorreceptores están presentes en la mayor parte de las células DAérgicas, incluyendo el soma, las dendritas y las terminales nerviosas. La activación de los autorreceptores somato dendríticos tiene como consecuencia la disminución en la tasa de disparo de las neuronas DAérgicas, mientras que la activación de los autorreceptores ubicados en las terminales nerviosas, inhibe la síntesis y liberación de DA (Cooper et al., 2003). De manera semejante a lo descrito para la regulación de la síntesis, el efecto se debe principalmente a la inhibición de la formación de AMPc y de la apertura de canales de  $Ca^{2+}$ . La reducción en la formación de AMPc disminuye la formación de la PKA que fosforila a las sinapsinas I y II, por lo que las vesículas tienden a estar unidas al citoesqueleto. Por otro lado, la inhibición de canales de  $Ca^{+2}$  activados por voltaje reduce la entrada del catión que ocurre en respuesta a los potenciales de acción que llegan a la terminal sináptica disminuyendo la probabilidad de fusión de las vesículas con la membrana.

Regulación por heterorreceptores. Otros neurotransmisores también pueden modular la síntesis de DA activando sus receptores en las terminales nerviosas DAérgicas. El efecto de la activación de heterorreceptores puede ser aumentar la liberación de DA o disminuirla. Un ejemplo es la activación de los receptores  $A_2$  para adenosina y los receptores NMDA para glutamato (Glu) en las

neuronas DAérgicas, la cual estimula la actividad de la TH teniendo como resultado un aumento en la síntesis de DA (Bahena-Trujillo et al., 2000).

### *Vías de la DA*

Actualmente se sabe que el sistema DAérgico es muy extenso y para su estudio se ha propuesto la agrupación de las vías DAérgicas. Fuxe (1965) estableció la clasificación de las proyecciones DAérgicas en el cerebro de la rata. La primera propuesta intentaba dar una clasificación a varios grupos de células DAérgicas y noradrenérgicas con la letra A e incluía la clasificación de grupos de células serotoninérgicas con la letra B y las adrenérgicas con la letra C. Los grupos de células noradrenérgicas quedaron clasificadas de la A1 a la A7, mientras que los grupos de células DAérgicas fueron finalmente denominadas desde la A8 hasta la A17 (Feldman et al., 1996). Esta organización sigue siendo aceptada a la fecha ya que los grupos celulares DAérgicos no se limitan a la ubicación en una sola estructura sino que envían proyecciones de una estructura a otra, además de que la distribución de los cuerpos celulares varía entre diferentes mamíferos y vertebrados, por lo que el uso de esta clasificación permite comparar los datos obtenidos entre diferentes especies (Björklund & Dunnett, 2007b). A partir de los años 70's, existe otra clasificación que agrupa las vías DAérgicas en 3 tipos de sistemas de acuerdo a la longitud de sus fibras eferentes (Cooper et al., 2003). Esta división considera la existencia de sistemas ultra cortos, formados por las células DAérgicas amacrinas interplexiformes y las células DAérgicas periglomerulares del bulbo olfatorio. Los sistemas intermedios incluyen al sistema de células DAérgicas tuberohipofisiales, las neuronas incertohipotalámicas y el grupo paraventricular medular que incluye a las células DAérgicas en el perímetro del núcleo motor dorsal del nervio vago, el núcleo del tracto solitario y las células en la materia gris periacueductal. Finalmente, los sistemas largos son proyecciones que van del ATV (A8 y A10) o la sustancia negra (A9) a tres principales puntos:

1. El neostriado, principalmente el caudado y putamen.
2. Áreas de la corteza límbica como las áreas entorinales, cingulada y medial prefrontal
3. Otras estructuras límbicas, como el NAcc, la región del septum, tubérculo olfatorio, complejo amigdaloides y la corteza piriforme.

Los sistemas largos representan una de las partes claves en el funcionamiento del sistema de la recompensa del cerebro y con el fin de analizarlo podemos mencionar dos divisiones principales. La primera división es el sistema nigroestriatal (aproximadamente 10,000 cuerpos celulares en un sólo lado del cerebro en el grupo A9) (Feldman et al., 1996) que se origina en la sustancia negra e inerva el estriado y es asociado al control voluntario del movimiento. La segunda división va del ATV y proyecta a la CPF, el hipocampo, la amígdala y el NAcc (A10). Esta segunda división se conoce como sistema mesocorticolímbico, que surge principalmente en la vía A10 con pequeñas contribuciones de las vías A9 y A8 (Feldman et al., 1996) y es de primordial importancia en relación al sistema de la recompensa. El número de células DAérgicas mesencefálicas ha sido estimado alrededor de 15,000 y 20,000 de cada lado, lo que resulta ser el triple de las neuronas noradrenérgicas en dicha área. Este sistema, ha sido asociado a condiciones fisiológicas y patológicas como el estrés, algunos desórdenes neuropsiquiátricos y la adicción a las drogas. Puede a su vez, ser dividido en dos subsistemas dependiendo de la ubicación de los cuerpos neuronales en el ATV y sus proyecciones. En este sentido, el sistema mesolímbico está constituido por los cuerpos celulares ubicados en el área paranigral del ATV que envían proyecciones hacia el NAcc y está asociado con la actividad motora y de la recompensa. Por otro lado, los cuerpos ubicados en el núcleo parabraquial del ATV, proyectan hacia estructuras corticales formando el sistema mesocortical, que ha sido relacionado con la modulación de funciones cognitivas. La concentración extracelular de DA en esta área es importante ya que el neurotransmisor puede activar autorreceptores inhibitorios del tipo D<sub>2</sub>, inhibiendo la liberación de DA en el ATV y en los nervios terminales de las fibras corticales y

límbicas. La liberación de DA en el ATV a su vez juega un papel modulador para la liberación de la misma DA en el sistema mesocorticolímbico (Adell & Artigas, 2004; Björklund & Dunnett, 2007b).

### *Funciones asociadas a la DA*

Además de su participación en el sistema de la recompensa la DA tiene múltiples funciones tanto en el SNC como en el SNP. En el SNP, la DA aumenta la presión arterial y en dosis bajas aumenta el filtrado glomerular y la excreción de sodio. Además, es precursora de la adrenalina y de la noradrenalina y actúa como intermediario en el metabolismo de las tiroxinas. En el SNC su efecto es diferente en función del sistema DAérgico del que se trate. Sus funciones en los tres sistemas DAérgicos más importantes son las siguientes:

1. Sistema nigroestriatal: está involucrado en la actividad motora. La pérdida de las neuronas DAérgicas de la sustancia negra produce la enfermedad de Parkinson (Feldman et al., 1996) en la que los movimientos se hacen marcadamente lentos y aparece un temblor de las manos en reposo.
2. Sistema mesocorticolímbico: se encuentra en la parte anterior del cerebro y se compone de una serie de núcleos que se conectan entre sí permitiendo el flujo de información entre los núcleos del circuito límbico-estriado-pálido hacia los sistemas motores piramidales y extrapiramidales. Se encuentra relacionado con numerosos procesos cognitivos y de reforzamiento, la atención y la motivación. Es considerado como el centro cerebral del placer y su estimulación es responsable de la adicción a las drogas (Pérez de los Cobos, 2006).
3. Sistema tuberohipofisario: en este sistema la DA inhibe la secreción de prolactina y por lo tanto de la lactancia.

## *La DA y el efecto reforzante de las drogas adictivas*

A pesar de las evidencias sobre el papel de la DA en el efecto reforzante de las drogas de abuso, la participación del sistema DAérgico tiene su complejidad, pues como ya dijimos se conocen dos familias de receptores DAérgicos, los receptores  $D_{1\text{-like}}$  ( $D_1$  y  $D_5$ ) y los receptores  $D_{2\text{-like}}$  ( $D_2$ ,  $D_3$  y  $D_4$ ) (Tabla 1). Sin embargo, ambas familias tienen pesos diferentes en cuanto a su participación en los efectos reforzantes de las drogas. En este sentido, existe una gran cantidad de evidencia que permite sugerir un papel importante de los receptores  $D_{2\text{-like}}$  en el efecto reforzante de las drogas de abuso. Por ejemplo, algunos estudios realizados con sujetos animales han mostrado que el pretratamiento con antagonistas de los receptores de la familia  $D_2$  puede bloquear las autoadministraciones de ANF en monos y ratas (Caine, Stevens, Mello & Bergman, 1999; Grech, Spealman & Bergman, 1996) mientras que los agonistas de la familia  $D_2$  mantienen las autoadministraciones (Grech et al., 1996). Otra evidencia del papel de los receptores de la familia  $D_{2\text{-like}}$ , es que el pretratamiento con agonistas de los receptores de dicha familia, puede desplazar la curva dosis-respuesta de autoadministraciones de cocaína hacia la izquierda, lo que implica que estos compuestos aumentan el efecto reforzante de la cocaína (Caine et al., 1999).

A diferencia de los resultados claros y consistentes obtenidos en los estudios enfocados a los receptores  $D_2$ , los resultados del estudio de los receptores  $D_1$  muestran grandes desacuerdos. Mientras que en algunos estudios se ha observado que los agonistas  $D_1$  pueden mantener las autoadministraciones (Self & Stein, 1992; Weed & Woolverton 1995) algunos otros estudios muestran lo contrario (Weed, Vanover & Woolverton, 1993; Woolverton, Goldberg & Ginos, 1984). Algunos autores como Grech et al. (1996) mencionan que estos resultados contradictorios podrían deberse a la diferencia entre el tipo de programas de reforzamiento usados, e incluso a diferencias individuales entre los animales. Por ejemplo, en un estudio dirigido a evaluar las autoadministraciones de cocaína en

monos encontraron que los agonistas  $D_2$  mantienen las autoadministraciones intravenosas (iv) de cocaína empleando dos tipos de programas de reforzamiento distintos. Por el contrario, los agonistas de los receptores  $D_1$  SK81297 y SK77434, sólo mantienen las administraciones bajo un tipo de programa de reforzamiento. Solamente el agonista de los receptores  $D_1$  SK82958, mantiene las autoadministraciones bajo los dos tipos de programas, al igual que los agonistas  $D_2$ , sin embargo, este compuesto también tiene una afinidad por los receptores  $D_2$ .

En su mayoría los resultados de diversos estudios muestran que los agonistas  $D_{1-like}$  no son capaces de mantener las autoadministraciones de cocaína en las diversas situaciones en las que los agonistas de la familia  $D_{2-like}$  sí lo hacen. Además tanto en ratas como en monos, los agonistas de los receptores  $D_{1-like}$  pueden atenuar la capacidad de la cocaína de restablecer las respuestas después de la extinción de las autoadministraciones, mientras que los agonistas de los receptores  $D_{2-like}$  parecen aumentarla. Otro estudio que apoya estas premisas es el de Caine et al. (1999) quienes encontraron que los agonistas  $D_{1-like}$  SK82958 y SK77434 a diferencia del estudio de Grech et al. (1996) no pueden mantener las autoadministraciones de cocaína en ratas. Mientras que el pretratamiento con agonistas de los receptores  $D_{2-like}$ , desliza la curva dosis-respuesta hacia la derecha.

Ahora bien, a pesar de que la evidencia muestra que la familia de los receptores  $D_{2-like}$  posee un papel primordial en los efectos reforzantes de las drogas de abuso, el papel específico que juega cada subtipo de receptor perteneciente a la familia ha sido difícil de especificar debido a la baja selectividad de los compuestos existentes. En relación a este punto, Caine et al. (2002) realizaron un estudio en el que analizaron la participación de los receptores  $D_2$  en el efecto reforzante de la cocaína y encontraron, primeramente que la expresión de dichos receptores no es necesaria para el efecto reforzante de la cocaína, ya que las curvas de autoadministración se encontraron iguales tanto en los ratones que carecían del receptor como en los que sí lo presentaban. Sin embargo,

reportaron que sí son importantes en cuanto a la administración de tasas altas pues cuando se encontraban disponibles, los ratones que carecían del receptor  $D_2$  presentaron alrededor del doble de respuestas, efecto que no podía ser revertido con el pretratamiento con antagonistas  $D_4$  y sugiere que en este fenómeno intervienen únicamente los receptores  $D_2$ . También encontraron diferencias en cuanto al mantenimiento de las autoadministraciones con comida, pues en este caso, las respuestas que se observaron en los ratones que carecían del receptor  $D_2$  fueron significativamente menores, lo que se reflejó en una cantidad menor de comida obtenida por estos sujetos. Adicionalmente, se pudo observar que la administración de antagonistas  $D_2$  recorría la curva dosis-respuesta hacia la derecha y estos datos permiten sugerir que los receptores  $D_2$  juegan un papel muy importante, aunque no determinante, en los efectos reforzantes de la cocaína. Los datos también sugieren que a pesar de los resultados en los estudios anteriores, los receptores  $D_3$  y  $D_4$  no parecen tener la misma importancia que los receptores  $D_2$  en los efectos reforzantes de la cocaína. Pareciera ser que la importancia de los receptores  $D_3$  y  $D_4$  está dada por su interacción con los receptores  $D_2$  lo que apoya el papel primordial de los receptores  $D_2$ .

Los estudios preclínicos y algunas nuevas tecnologías como la tomografía por emisión de positrones (TEP), han permitido el estudio del sistema DAérgico en seres humanos. Con ellos, se ha obtenido sustento a los datos obtenidos en animales en los que se sugiere que el sistema de la DA se encuentra involucrado con los efectos placenteros de las drogas. Tanto en los estudios preclínicos como en los de imagen se ha demostrado que la liberación de DA en el estriado se correlaciona con la experiencia del placer. En el 2005 se encontró que la administración de ANF resulta en una liberación estriatal de DA, aunque no encontraron una asociación con los efectos subjetivos que provoca (Franken, Booji & Van den Brink, 2005).

**Tabla 1****Importancia de las familias de receptores D<sub>1-like</sub> y D<sub>2-like</sub> en las adicciones**

Receptores D <sub>1-like</sub>		Receptores D <sub>2-like</sub>	
Agonistas		Agonistas	Antagonistas
Mantiene las autoadministraciones de cocaína en ratas.	Mantienen las autoadministraciones en monos y ratas.		Bloquean las autoadministraciones de ANF en monos y ratas
No mantienen las autoadministraciones de cocaína en ratas.	Desplazan la curva dosis respuesta de autoadministraciones de cocaína hacia la izquierda.		
Atenúan la capacidad de la cocaína de reestablecer las respuestas después de la extinción de autoadministraciones.	Aumentan la capacidad de la cocaína de reestablecer las respuestas después de la extinción de autoadministraciones.		

Los resultados son claros en el caso de la familia D<sub>2-like</sub>, no así en el caso de los receptores de la familia D<sub>1-like</sub>.

*Mecanismo neurobiológico de los psicoestimulantes*

Como se mencionó previamente, se sabe que las sustancias adictivas producen sus efectos motivacionales a través de la estimulación de algunas de las estructuras cuya estimulación eléctrica resultó reforzante durante los experimentos realizados por Olds y Milner (Best, 2006). Las neuronas DAérgicas mesolímbicas están implicadas en las propiedades reforzantes de una variedad de drogas de abuso, incluyendo las de los estimulantes psicomotores como la cocaína y la ANF.

La cocaína se une al transportador de la recaptura de la DA (DAT) y lo bloquea impidiendo la recaptura de la DA acumulada en el espacio intersináptico, efecto que se correlaciona con su reforzamiento conductual y propiedades estimulantes psicomotoras. De hecho, el DAT, a veces es llamado el principal “receptor de la cocaína” del cerebro (Cooper et al., 2003). El bloqueo del DAT tiene como consecuencia un incremento en la unión de la DA a los receptores DAérgicos postsinápticos ubicados en el NAcc. En el caso de los estimulantes tipo

anfetamina (ANF) la interacción con el DAT es distinta, sin embargo, el efecto funcional a nivel neuronal es el mismo. Los estimulantes tipo ANF pueden interactuar con el DAT de dos formas distintas; la primera posibilidad es la típica de la cocaína y el metilfenidato, bloqueando el DAT, mientras que el segundo mecanismo posible, es el típico de la ANF. Este mecanismo implica no sólo la unión al DAT sino el traslado de la ANF al interior de la célula en lugar de la DA. Una vez dentro de la neurona la ANF entra en las vesículas sinápticas de DA donde su carga cambia el gradiente produciendo que la DA salga de las vesículas, elevando así la concentración de DA en el citosol. Lo anterior se suma a que la ANF revierte la dirección del DAT para facilitar la salida de la DA al espacio extracelular en lugar de facilitar su eliminación y elevando dramáticamente las concentraciones extracelulares de DA (Kalivas, 2007).

El efecto reforzante de los psicoestimulantes a través del aumento de la DA ha sido corroborado con estudios que muestran que otros inhibidores de la recaptura de la DA también pueden funcionar como reforzadores positivos y que la capacidad de ellos para mantener la conducta de autoadministración se correlaciona con la potencia que tienen para unirse a los DATs (Caine et al., 2002). Adicionalmente, estas drogas han mostrado tener afinidad por los transportadores de la 5-HT y norepinefrina, sin embargo la capacidad de las drogas para provocar la autoadministración se correlaciona sólo con su afinidad por los DATs (Zahniser & Sorkin, 2004).

#### *Sistemas de neurotransmisión moduladores de la DA*

Ahora bien, ya se mencionó que la activación de los receptores D<sub>2</sub> juega un papel de primordial importancia en los efectos reforzantes de los psicoestimulantes, y que los receptores D<sub>3</sub> y D<sub>4</sub> podrían tener una participación basada únicamente en la interacción que tienen con los receptores D<sub>2</sub>. Sin embargo, esta interacción no es la única que resulta de importancia en los efectos reforzantes de los psicoestimulantes. Si bien las terminales DAérgicas son el

principal sitio de acción de los psicoestimulantes, el tratamiento para su adicción mediante esta vía no fue exitoso, pues en general el mecanismo de acción de la cocaína y la ANF no había sido completamente descrito, y aún cuando muchas drogas parecían bloquear los efectos de la cocaína, muchos de los estudios eran limitados y parecían indicar que el tratamiento con compuestos DAérgicos producía efectos colaterales de importancia (Witkin, 1994), por lo que comenzó a sugerirse el estudio de vías o sistemas de neurotransmisión que pudieran modular de forma indirecta la liberación de DA.

El efecto reforzante de los psicoestimulantes puede ser influenciado por la manipulación de otros sistemas de neurotransmisión que se interconectan con el sistema DAérgico. De esta forma, se han realizado estudios en los que se evalúa la modulación de sistemas de neurotransmisión como el de la 5-HT, el Glu, y por supuesto, como ya se mencionó, el del GABA. El ácido γ-amino-butírico es uno de los neurotransmisores con interacciones con la DA, de hecho el 80% de las neuronas en el NAcc son GABAérgicas. Algunas de las neuronas GABAérgicas en el NAcc proyectan hacia las neuronas DAérgicas en el ATV, sitio en que también se ha encontrado la presencia de interneuronas GABAérgicas que en conjunto regulan la actividad de las neuronas DAérgicas.

## **ÁCIDO $\gamma$ -AMINO BUTÍRICO**

Los aminoácidos son una de las estructuras más importantes en la formación y funcionamiento de los organismos vivos. La complejidad del SNC incluye una gran cantidad de aminoácidos, de los cuales los ácidos monocarboxílicos son uno de los más abundantes, y uno de los principales es el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA, por sus siglas en inglés). Este aminoácido tiene por función la mediación de los estímulos inhibitorios (DeRuiter, 2004), de hecho, es reconocido como el neurotransmisor inhibitorio más importante del SNC en los mamíferos (Bowery & Smart, 2006). Su concentración es tan alta que a diferencia de las monoaminas, cuya concentración es medida en nanomoles, la concentración de los aminoácidos como el GABA y el Glu es medida en milimoles (Cooper et al., 2003). Hoy en día sabemos que el GABA es tan importante que el bloqueo de su acción puede producir convulsiones o incluso la muerte (Feldman et al., 1996), sin embargo, esta jerarquía del GABA no fue reconocida sino hasta finales de los años 60's, y para que lograra consolidarse como un neurotransmisor tuvieron que realizarse una gran cantidad de investigaciones al respecto.

### **Identificación y evolución a neurotransmisor**

El GABA fue identificado desde 1910 en tejidos biológicos y a principios de la década de los 50's en el SNC de distintas clases de mamíferos. Este último descubrimiento fue reportado en dos trabajos de forma simultánea, por un lado Roberts y Frankel (1950), además de hallar su presencia en el SNC de mamíferos, también observaron que el GABA podía estar formado a partir del ácido glutámico, hecho que abordaremos más adelante. Por otro lado, Awapara, Landua, Furts y Seal (1950) reportaron concentraciones de GABA en el cerebro de ratas, pichones, conejos, reses y humanos. Sin embargo, a pesar del exitoso inicio, la presencia del GABA en el SNC de mamíferos fue negada hasta después de los años 60's debido a la falta de datos e incluso a datos contradictorios (Bowery & Smart, 2006).

Independientemente, en 1953 se llevaban a cabo algunas investigaciones importantes en la historia del GABA. Ernest Florey, quien en esos años se dedicaba a estudiar los mecanismos de control excitatorios e inhibitorios en los crustáceos, observó que un compuesto desconocido proveniente del cerebro de un caballo, tenía propiedades inhibitorias al ser aplicado exógenamente. Florey llamó a este compuesto "Factor I" (Florey, 1961) y en posteriores investigaciones logró aislarlo del cerebro de una vaca y determinar que el compuesto activo era GABA, y por tanto señalarlo como posible neurotransmisor natural (Bowery & Smart, 2006). No obstante, las características del GABA se convirtieron en un obstáculo para que fuera aceptado como neurotransmisor. Entre estas características se encontraba que su concentración en el cerebro de vertebrados era 100 veces más grande que los neurotransmisores conocidos, lo que sugería que no había un proceso para su rápida inactivación, además de que parecía tener una estructura simple y un papel en el ciclo de Krebs (Jorgensen, 2005). Para 1964 se habían generado una gran cantidad de datos que no apoyaban el papel del GABA como neurotransmisor y se sugirió que se encontraba involucrado en el metabolismo. A pesar de dichos resultados, las investigaciones al respecto sirvieron para generar interés en el posible potencial neuroquímico del GABA, aún cuando fueron pocos los reportes en que se pretendía dar cuenta de sus efectos y participación en la actividad neuronal (Bowery & Smart, 2006).

Algunas dudas y discrepancias en cuanto a la naturaleza del GABA fueron resueltas con estudios en los que el análisis de neuronas corticales, arrojó evidencia del GABA como neurotransmisor inhibitorio. En dichos estudios se reportaba que la bicuculina, un alcaloide natural, podía bloquear la acción del GABA y provocar inhibición postsináptica en la corteza cerebral. Estos reportes y los resultados de estudios en que se reportaba que el GABA causaba una hiperpolarización de las neuronas similar a la provocada por sustancias consideradas como neurotransmisores, se convirtieron en la evidencia irrefutable de la naturaleza del GABA como neurotransmisor (Cooper et al., 2003). A partir de ese momento comenzó el aumento en la investigación sobre el GABA con el fin de

acumular información para poder cumplir los criterios necesarios para reconocer su importante papel en la fisiología del cerebro. Eventualmente pudo ser descrita su localización y vías de síntesis, junto con el proceso de liberación sináptica y de activación. Las vías específicas de liberación fueron difíciles de definir bioquímicamente, pero fueron identificadas y confirmadas usando técnicas electrofisiológicas (Bowery & Smart, 2006).

Una vez que el GABA fue aceptado como neurotransmisor, entre los años 70's y los 80's comenzó el interés y necesidad de estudiar las características del receptor GABAérgico. Este proceso culminó con la propuesta de la estructura del receptor ionotrópico a finales de los años 80's, momento en que se supo que algunas sustancias utilizadas como anestésicos y neuroesteroides parecían potenciar el efecto del GABA. Alrededor de los 70's, Eugene Roberts y sus colaboradores describieron la distribución de una enzima necesaria para la síntesis del GABA (ácido glutámico descarboxilasa: GAD, por sus siglas en inglés), en la médula espinal de mamíferos y se supo que el  $\beta$ -clorofenil GABA (baclofen) era un agonista específico para este receptor (Barber et al., 1978). El baclofen se usaba desde 8 años antes como una droga útil en el tratamiento de la espasticidad muscular. Eventualmente surgió evidencia irrefutable sobre la presencia de un nuevo receptor en el cerebro de mamíferos y en 1981 se decidió darle nombre de "GABA<sub>B</sub>", mientras que se continuó haciendo referencia al receptor ionotrópico clásico como "GABA<sub>A</sub>" (Bowery & Smart, 2006).

### **Ciclo del GABA**

El GABA se sintetiza en un solo paso por medio de la acción de la GAD, una enzima que utiliza piridoxal fosfato como cofactor y requiere un pH óptimo de 6.5 (Cooper et al., 2003). Se han encontrado dos formas diferentes de GAD tanto en ratas como en humanos, ambas con pesos moleculares distintos: GAD<sub>65</sub> y

GAD<sub>67</sub>. Ambos tipos tienen una homología del 90% en la secuencia de aminoácidos entre ratas y humanos (Feldman et al., 1996).

El GABA es sintetizado directamente del Glu, por lo que la síntesis de éste también es importante. El Glu puede ser sintetizado a partir de dos reacciones bioquímicas distintas. Sin embargo, algunos estudios bioquímicos indican que la mayoría de las moléculas de Glu derivan del mecanismo oxidativo normal de la glucosa o glicolisis. Este proceso involucra la ruptura de la glucosa en piruvato, la conversión del piruvato en acetil coenzima A (acetil CoA), y la entrada de la CoA en el ciclo del ácido cítrico. Uno de los constituyentes principales del ácido cítrico es el  $\alpha$ -ketoglutarato ( $\alpha$ -KG) o 2-oxoglutarato, que puede ser convertido posteriormente en Glu por medio de la transaminación. La transaminación implica la participación de un conjunto de enzimas llamadas aminotransferasas que pueden transferir un grupo amino de un aminoácido donador a uno que acepta moléculas. Cuando el receptor es un  $\alpha$ -KG, se forma una molécula de Glu. Las enzimas que participan en estas reacciones, usan fosfato piridoxal (una clase de vitamina B<sub>6</sub>) como cofactor y son nombradas de acuerdo a la identidad del aminoácido donador. En el cerebro, parece que la alanina aminotransferasa (que usa alanina como donador) es la enzima más importante para la formación del Glu vía transaminación (Figura 3A). A pesar de que el proceso de transaminación permite la formación de la mayor parte del Glu, otra importante vía de la síntesis del Glu involucra la formación de glutamina vía glutaminasa activada por fosfato, una enzima mitocondrial que requiere ATP para su activación (Figura 3A'). Una vez sintetizado el Glu, principalmente el de la conversión de glutamina a Glu, la GAD convierte al L-Glu en GABA y CO<sub>2</sub> usando piridoxal fosfato como cofactor (Figura 3B). Algunos estudios han mostrado que la GAD se encuentra altamente concentrada en el citoplasma y su localización indica que la síntesis del GABA ocurre principalmente en las terminales axónicas (Feldman et al., 1996).

Después de que el GABA ha sido sintetizado debe ser liberado, para ello es almacenado en vesículas sinápticas por medio de transportadores vesiculares. Se han identificado transportadores vesiculares con 10 dominios transmembranales y una terminal amino citoplasmática muy larga, de aproximadamente 130 aminoácidos (Cooper et al., 2003). Después de la vesiculación, es liberado de forma dependiente del  $\text{Ca}^{2+}$  por la despolarización de la membrana presináptica mediante un proceso de exocitosis (DeRuiter, 2004). Una pequeña cantidad de GABA podría ser liberada por un proceso distinto a la exocitosis en el momento en que la terminal se despolariza (Feldman et al., 1996).

Una vez que el GABA completó su función es necesario que sea removido del espacio intersináptico. Esta eliminación involucra la captura del neurotransmisor, tanto por parte de la neurona postsináptica como presináptica, y la acción de los astrocitos. Los sistemas de recaptura de GABA son de alta afinidad debido a su capacidad para funcionar con concentraciones bajas del neurotransmisor. Inicialmente se clonaron los genes de dos diferentes transportadores de la recaptura de GABA; el GAT-A y el GAT-B (también llamados GAT-1 y GAT-2), que diferían en cuanto a su localización. Por ejemplo, los GAT-A se encuentran abundantemente en la neocorteza, hipocampo, estriado y en la corteza cerebral, no así los GAT-B. A nivel celular los GAT-B se encuentran predominantemente en neuronas mientras que los GAT-A se encuentran en la membrana de las terminaciones nerviosas GABAérgicas y en la glia (Feldman et al., 1996). Actualmente se han clonado al menos 4 transportadores diferentes (GAT-1-4) de los cuales al menos tres se expresan en el SNC (Cooper et al., 2003).

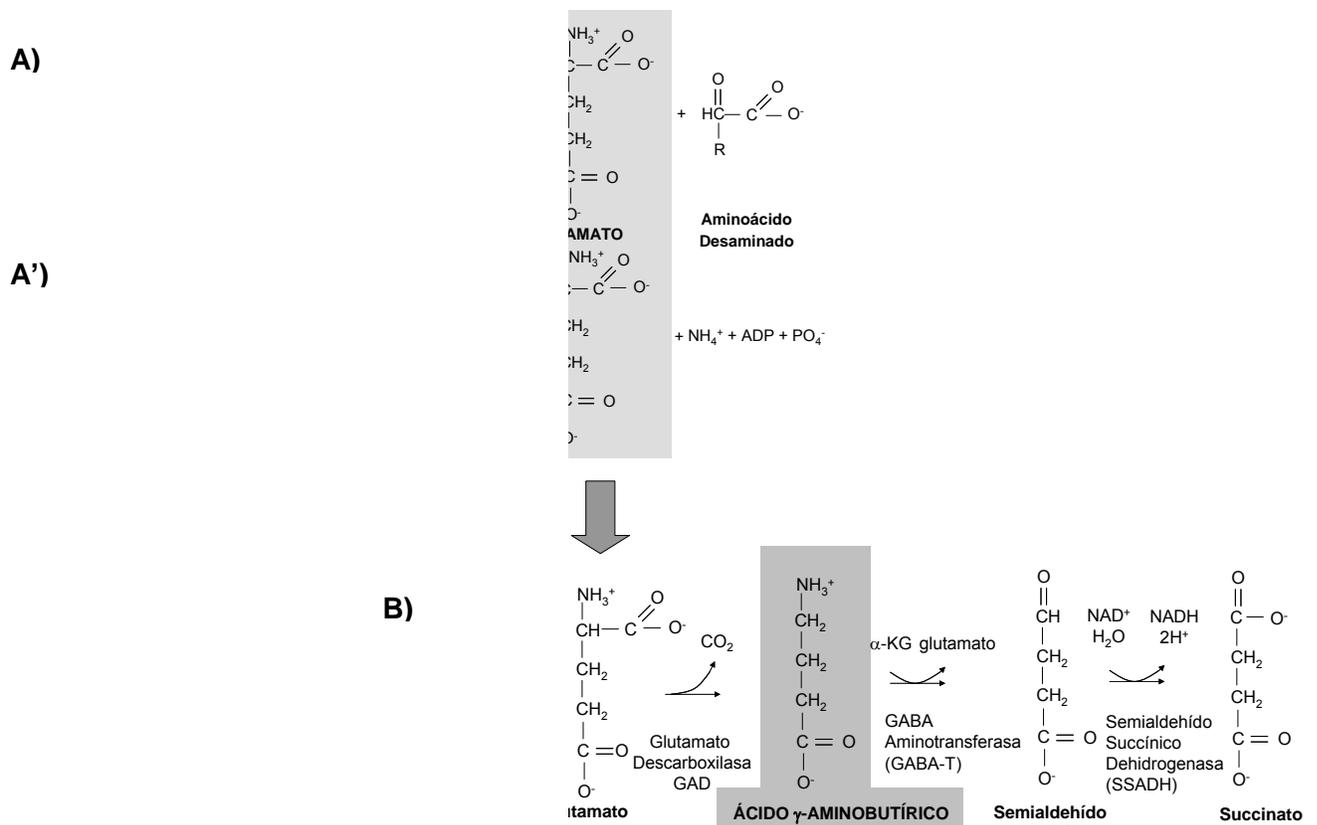


Figura 3. Síntesis de GABA a partir de su precursor Glu, el cual puede ser sintetizado por dos vías distinta; vía transaminación (A) o vía glutaminasa (A'). Una vez que el Glu ha sido sintetizado, la GAD permite la conversión del Glu a GABA y CO<sub>2</sub>. Finalmente, el metabolismo del GABA se lleva a cabo por la acción de la GABA aminotransferasa sobre el GABA para formar semialdehído succínico y la acción de la semialdehído succínico deshidrogenasa dejando finalmente succinato (B).

Finalmente, el metabolismo del GABA se lleva a cabo por la enzima GABA-transaminasa, actualmente llamada GABA-aminotransferasa o GABA-T (DeRuiter, 2004). La enzima GABA-T es una enzima mitocondrial con un peso molecular de 109 kDa y requiere piridoxal fosfato como cofactor. Como se mencionó anteriormente, en la transaminación se transfiere un grupo amino de un aminoácido donador a una molécula receptora, en este caso la GABA-T, actúa transfiriendo el grupo amino del GABA, originando dos productos: 1) α-KG, que lo llevará nuevamente a adquirir la forma de su precursor y ser usado desde los primeros pasos para ser regenerado como GABA, y 2) semialdehído succínico. Éste último

es rápidamente oxidado a succinato por la enzima mitocondrial SSADH (semialdehído succínico deshidrogenasa). La enzima GABA-T ha sido detectada en las neuronas GABAérgicas y en las células gliales (astrocitos), por lo que tiene la capacidad de inactivar sinápticamente la liberación de GABA y metabolizar el exceso de neurotransmisor que se encuentra fuera de las vesículas presinápticas (Feldman et al., 1996). El GABA puede sufrir otras transformaciones en el SNC, una de las más simples es la reducción del semialdehído succínico a  $\gamma$ -hidroxiбутирато (GHB), cuya administración en determinadas concentraciones ha mostrado poder ser transformada en GABA (Cooper et al., 2003).

### **Localización del GABA en el SNC y SNP**

La actividad de la GAD puede ser encontrada en casi cualquier clase de organismos incluyendo plantas verdes. En el caso de los mamíferos, fuera del SNC ha sido detectada en las células  $\beta$  secretoras de insulina en el páncreas. Estas células tienen actividad de la GAD, sintetizan GABA y lo almacenan en pequeñas vesículas parecidas a las vesículas sinápticas. El GABA en este sistema tiene la función de inhibir la secreción de la hormona glucagon que actúa de forma opuesta a la insulina (Feldman et al., 1996).

#### *Vías GABAérgicas en el SNC*

Por medio de diferentes técnicas de inmunohistoquímica, histoquímica y otras, algunos investigadores lograron identificar varios grupos de células y vías GABAérgicas en el cerebro (Figura 4). Se ha estimado que entre el 10 y 40% de las terminaciones nerviosas de la corteza cerebral, hipocampo y sustancia negra usan el GABA como sustancia transmisora. Otras áreas ricas en GABA son el cerebelo, el estriado, el globo pálido, el bulbo olfatorio, el ATV y el NAcc. Además, el GABA desempeña un papel importante en la médula espinal, en donde se ha

localizado a lo largo de la materia gris, exceptuando las regiones de neuronas motoras (Feldman et al., 1996).

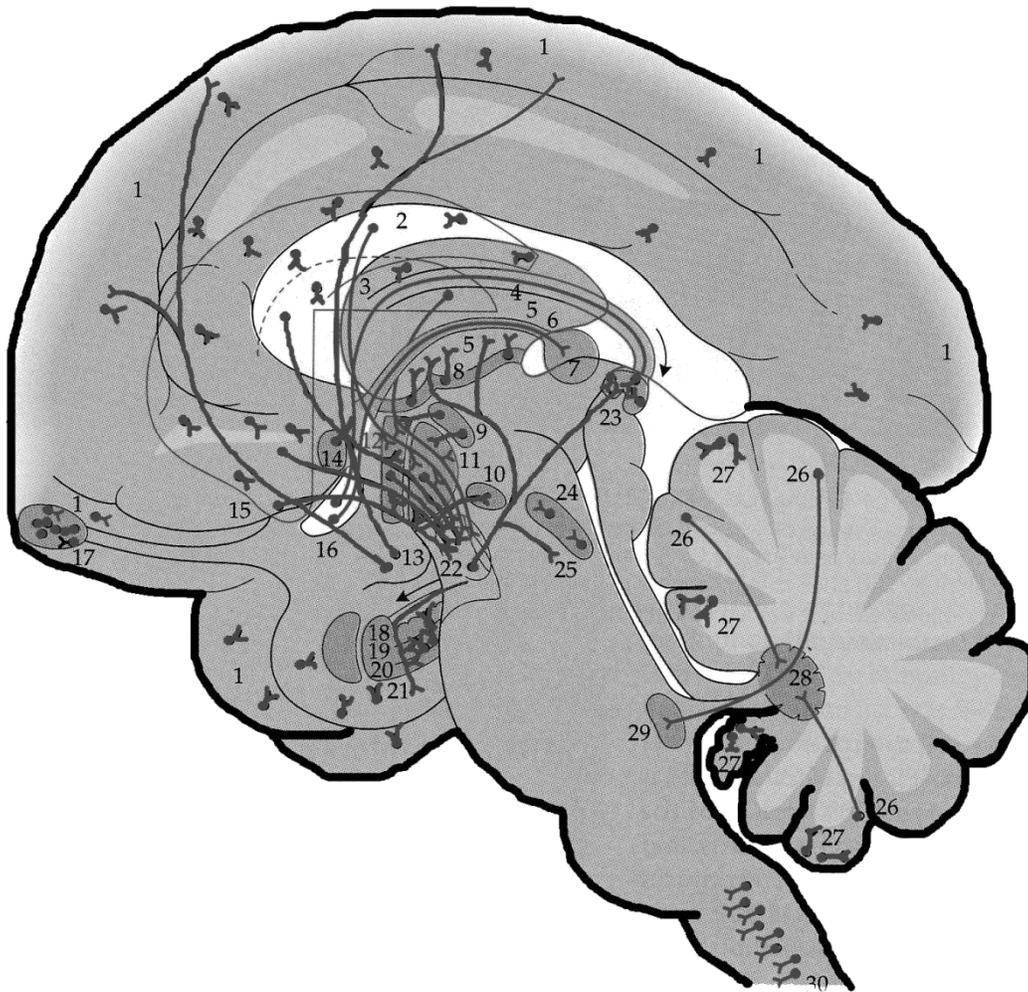


Figura 4. Vías GABAérgicas propuestas. 1= neo corteza; 2= Núcleo caudado; 3= putamen; 4= Fornix; 5= Talamo; 6=stria medullaris; 7= Núcleo medial habenuar; 8= Núcleo talámico reticular; 9= Núcleo subtalámico; 10= ATV; 11= Globo pálido medial; 12= Globo pálido lateral; 13=Grupos de células en el hipotálamo caudal que contienen GABA; 14= Núcleo septal medial; 15= NAcc; 16= Núcleo de la banda diagonal; 17= Bulbo olfatorio; 18= Giro dentado; 19= cuerno de Ammon de la formación hipocampal; 20= subiculum; 21=corteza entorhinal; 22= Sustancia negra; 23= colículo superior; 24= Núcleo dorsal del Rafé; 25= Tegmentum mesencefálico; 26= Células de Purkinje; 27= Células de Golgi, células en cesta y células estrelladas; 28= Núcleo cerebelar central; 29= Núcleo lateral vestibular; 30= Médula espinal. Modificado de Feldman et al. (1996).

## *Vías GABAérgicas en el SNP*

Además de las células  $\beta$  en el páncreas, el GABA también ha sido ubicado en los intestinos, y es parte de la regulación del corazón, sistema reproductivo y la vesícula biliar. La presencia de estas células y sus terminales asociadas podrían ser las responsables de los efectos a nivel periférico producidos por las administraciones sistémicas de compuestos GABAérgicos (Feldman et al., 1996).

### **Receptores GABAérgicos: GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>C</sub> y GABA<sub>B</sub>**

El GABA puede activar tres diferentes tipos de receptores llamados GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub> y GABA<sub>C</sub> (Tabla 2). Cada tipo de receptor posee características diferentes, la más notable es que los GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>C</sub> son receptores ionotrópicos mientras que los receptores GABA<sub>B</sub> son de tipo metabotrópico (Chebib & Johnston, 1999). Los tres tipos de receptores tienen diferentes sensibilidades farmacológicas; los receptores GABA<sub>A</sub> son activados por muscimol y bloqueados por bicuculina, mientras que los receptores GABA<sub>B</sub> son activados por baclofen y bloqueados por saclofen o faclofen (Jorgensen, 2005).

#### *Receptores ionotrópicos GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>C</sub>*

Los receptores GABA<sub>A</sub> se encuentran distribuidos ampliamente en el SNC, generalmente a nivel postsináptico en la membrana plasmática, dendritas o segmento inicial del axón (Bowery & Smart, 2006). Tienen una estructura pentamérica con diversas posibles combinaciones de distintas subunidades (Figura 5). Se han identificado cuatro familias de subunidades presentes en este tipo de receptor, la mayoría con más de una isoforma: subunidades  $\alpha$  (6 isoformas),  $\beta$  (4 isoformas),  $\gamma$  (3 isoformas) y  $\delta$  (1 isoforma). La mayoría de los receptores son hetero-oligoméricos; formados por 2 subunidades  $\alpha$ , 2 subunidades  $\beta$  o dos subunidades  $\gamma$ , aunque algunos receptores parecen contener

una o dos subunidades  $\delta$ , en lugar de cualquiera de las subunidades  $\gamma$ . A pesar de las múltiples combinaciones posibles, éstas se ven limitadas por la afinidad existente entre ellas.

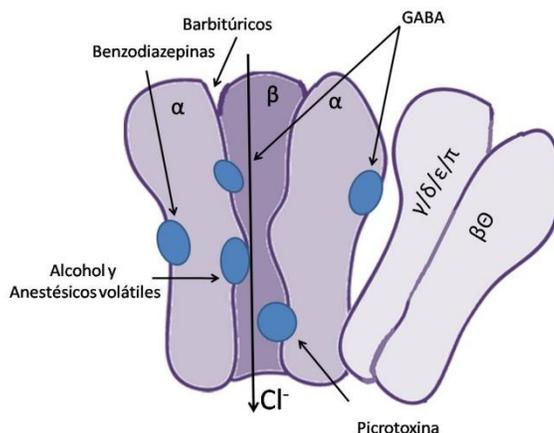


Figura 5. Estructura pentamérica del receptor GABA<sub>A</sub>, formado por distintas subunidades que incluyen sitios de unión para diversas sustancias como el GABA, benzodiazepinas, barbitúricos y picrotoxina.

El receptor GABA<sub>A</sub> no sólo incluye el sitio de unión del GABA, ubicado en una interfase entre las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  sino también sitios de unión para sustancias que modulan la acción del GABA. Su estructura presenta homología en las regiones en que los ligandos se unen y estos sitios incluyen:

- Subunidades  $\alpha$ : receptores de las benzodiazepinas (BDZs), son de diferentes subtipos e incluyen los subtipos BDZ1 y BDZ2. Los receptores BDZ1 tienen una afinidad alta tanto por las BDZs como por las triazolopiridazinas, y se piensa que son los más importantes para los efectos ansiolíticos de las BDZs. Los receptores BDZ2 tienen una alta afinidad por las BDZs pero no por las triazolopiridazinas, y se cree que se encuentran más involucrados en los efectos sedativos e hipnóticos de las BDZs. Aún cuando se sabe que estos sitios son activados por las BDZs, no se tiene información sobre el ligando endógeno que actúa en estos sitios (Feldman et al., 1996).

- Subunidades  $\beta$ : Involucrados en el sitio de unión del GABA, barbitúricos y picrotoxina (DeRuiter, 2004).

Por su parte, la estructura de los receptores GABA<sub>C</sub> también se compone de cinco subunidades que se encuentran juntas para formar un canal iónico. Cada subunidad tiene cuatro dominios transmembranales. Las cinco subunidades se juntan de forma que su segundo dominio transmembranal forma la pared del canal. Existe un asa intracelular larga entre los dominios transmembranales 3 y 4 que se cree es el sitio de acción de las proteínas kinasas y es requerido para la acción subcelular y de la membrana del receptor. A diferencia del receptor GABA<sub>A</sub>, que puede conformarse por distintas subunidades, e incluso por distintas isoformas de las distintas subunidades, en el caso del receptor GABA<sub>C</sub> se han clonado sólo tres subunidades en humanos, mamíferos y vertebrados ( $\rho 1$ ,  $\rho 2$  y  $\rho 3$ ). Se sabe que los receptores GABA<sub>C</sub> son homo-oligoméricos, es decir formados por cinco subunidades iguales, sin embargo también existe evidencia que sugiere que podría haber receptores GABA<sub>C</sub> hetero-oligoméricos.

La acción inhibitoria de los receptores GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>C</sub> se produce mediante la apertura de canales de cloro. En las neuronas de vertebrados los iones de cloro están mayormente concentrados fuera de la célula, por lo que la activación de los receptores GABA<sub>A</sub> permite que el cloro se difunda dentro de la célula, lo que tiene como consecuencia la hiperpolarización de la membrana y el decremento en la excitabilidad de la célula (inhibición hiperpolarizante). El agonista clásico de los receptores GABA<sub>A</sub> es una droga llamada muscimol, producto de la degradación del ácido iboténico del hongo *Amanita muscaria*. El consumo de muscimol por humanos causa una intoxicación caracterizada por hipotermia, dilatación de pupilas, dificultades en la concentración, anorexia, ataxia, catalepsia y alucinaciones. Por su parte la bicuculina, un alcaloide derivado de la

dicentra cucullaria, es considerada el antagonista clásico de los receptores GABA<sub>A</sub>.

**Tabla 2**  
**Principales características de los receptores GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub> y GABA<sub>C</sub>**

	GABA <sub>A</sub>	GABA <sub>B</sub>	GABA <sub>C</sub>
Tipo	IONOTRÓPICO	METABOTRÓPICO	IONOTRÓPICO
Distribución	Corteza cerebral, hipotálamo (+), cerebelo, cerebro medio, hipocampo(-), estriado y medula (--)	Capas moleculares del cerebelo, capas 1-3 de la corteza cerebral, colículo superior y núcleo interpeduncular	Neuronas retinales
Ubicación a nivel sináptico	Generalmente a nivel postsináptico. En la membrana, dendritas o segmento inicial del axón.	En la membrana plasmática, a nivel postsináptico y presináptico (auto y heterorreceptor)	Postsinápticamente
Estructura	Pentamérica, (distintas combinaciones de las distintas isoformas de las subunidades $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ y $\delta$ )	7 dominios transmembranales. Heterodímero (dos subunidades GABAB <sub>1</sub> y GABAB <sub>2</sub> )	Pentamérico con subunidades ( $\rho 1$ y $\rho 2$ ), hetero u homooligoméricos.
Mecanismo de acción	Apertura de los canales de Cl <sup>-</sup>	Acoplado a las proteínas G $\alpha$ y G $\beta\gamma$ . Inhiben adenilciclasa. Activan los canales de Ca <sup>++</sup> (presinápticos) y K <sup>+</sup> (postsinápticos)	Apertura de los canales de Cl <sup>-</sup>
Agonistas	diazepam clordiazepóxido	baclofen (Lioresal®)	CACA
Antagonistas	imidazodiazepina Ro 15-1788 (flumazenil)	faclofen, 2-hidroxisaclofén	TPMPA
Relevancia clínica	Propiedades para inducir relajación y sueño. Ansiolíticas y anticonvulsivantes	Epilepsia, adicción, dolor, enfermedades gastrointestinales. Se ha sugerido ansiedad, depresión y cognición.	

Los receptores GABA<sub>C</sub> no son sensibles ni a la bicuculina ni al baclofen, son activados por el ácido Z-4-aminobut-2-enoico (ácido cis-aminocrotínico, CACA por sus siglas en inglés), y por el (1S, 2R)-(+)-2-(aminometil)-ciclopropano-1-ácido carboxílico ((1S, 2R)-(+)-CAMP, y son selectivamente bloqueados por el (1,2,5,6-tetrahidropiridin-4-yl) ácido metilfosfínico (TPMPA).

### *Receptores metabotrópicos GABA<sub>B</sub>*

El descubrimiento de los receptores GABA<sub>B</sub> fue hecho cuando a finales de los años 70's Bowery et al. (1979) encontraron que el GABA puede inhibir presinápticamente la liberación de otros neurotransmisores sin ser bloqueado por la bicuculina. Hill y Bowery (1981) llamaron a estos sitios receptores GABA<sub>B</sub>. Estos receptores se encuentran en concentraciones menores que las de los receptores GABA<sub>A</sub> en el SNC (Cooper et al., 2003). Sin embargo, durante los siguientes años, la importancia del receptor GABA<sub>B</sub> en las neurociencias cobró sentido, especialmente cuando Roger Nicoll y sus colaboradores presentaron evidencia de su papel en la transmisión sináptica en el hipocampo de la rata (Bowery & Smart, 2006). Más de 10 años después de elaborada la estructura de los receptores GABA<sub>A</sub>, lentamente comenzó a reportarse la estructura del receptor GABA<sub>B</sub>. Una de las primeras propuesta fue hecha por Kaupmann et al. (1998). A partir de estudios realizados se reportó que el receptor GABA<sub>B</sub> era un monómero con 7 dominios transmembranales (7TM) y una terminal NH<sub>2</sub> extracelular larga. Poco después se reportó que el receptor GABA<sub>B</sub> es un heterodímero con dos diferentes subunidades de 7TM (GABA<sub>B1</sub> y GABA<sub>B2</sub>), que forman un receptor funcional (Figura 6). La subunidad GABA<sub>B1</sub> contiene el dominio con el sitio de unión para el GABA ubicado a nivel extracelular, mientras que la subunidad GABA<sub>B2</sub> aporta el sitio de acoplamiento a las proteínas G. Además, se reportó que en el dominio heptahelical de la segunda subunidad se podía encontrar un sitio alostérico modulador de la respuesta a los agonistas. Posteriormente se reportó la existencia

de diferentes isoformas de la subunidad GABA<sub>B1</sub> (1a-1f) aunque sólo 1a, 1b y 1c parecen actuar como subunidades funcionales (Bowery & Smart, 2006).

Actualmente se sabe que los receptores GABA<sub>B</sub> se encuentran ubicados en la membrana plasmática, a nivel postsináptico en neuronas no GABAérgicas y a nivel presináptico como autorreceptor o heterorreceptor, y se encuentran involucrados en importantes acciones del GABA en órganos periféricos como el pulmón (Feldman et al., 1996). En el SNC la más alta densidad de los receptores GABA<sub>B</sub>, ha sido encontrada en el núcleo talámico, el cerebelo, la amígdala y la corteza. También se han encontrado considerables concentraciones en el hipocampo, la habénula, la sustancia negra, el ATV, el NAcc, el globo pálido y el hipotálamo (Filip & Frankowska, 2008).

Debido a la importancia de los receptores GABA<sub>B</sub> en la modulación de los efectos conductuales de los psicoestimulantes, las siguientes secciones están dedicadas a su estructura, mecanismo de acción e implicaciones generales.

### *Estructura*

Un receptor GABA<sub>B</sub> funcional está compuesto por dos subunidades que forman un heterodímero, es decir, un complejo formado por dos subunidades pertenecientes al mismo tipo de neurotransmisor (Figura 6). Ambas subunidades tienen una terminal NH<sub>2</sub> extracelular larga y cuentan con 7 dominios transmembranales cada una y una terminal COOH intracelular corta, la cual forma un asa que permite la unión de las dos subunidades. La terminal amino de la subunidad GABA<sub>B1</sub> contiene el sitio de unión para el neurotransmisor endógeno y los ligandos (agonistas y antagonistas) de los receptores GABA<sub>B</sub> (Filip & Frankowska, 2008).

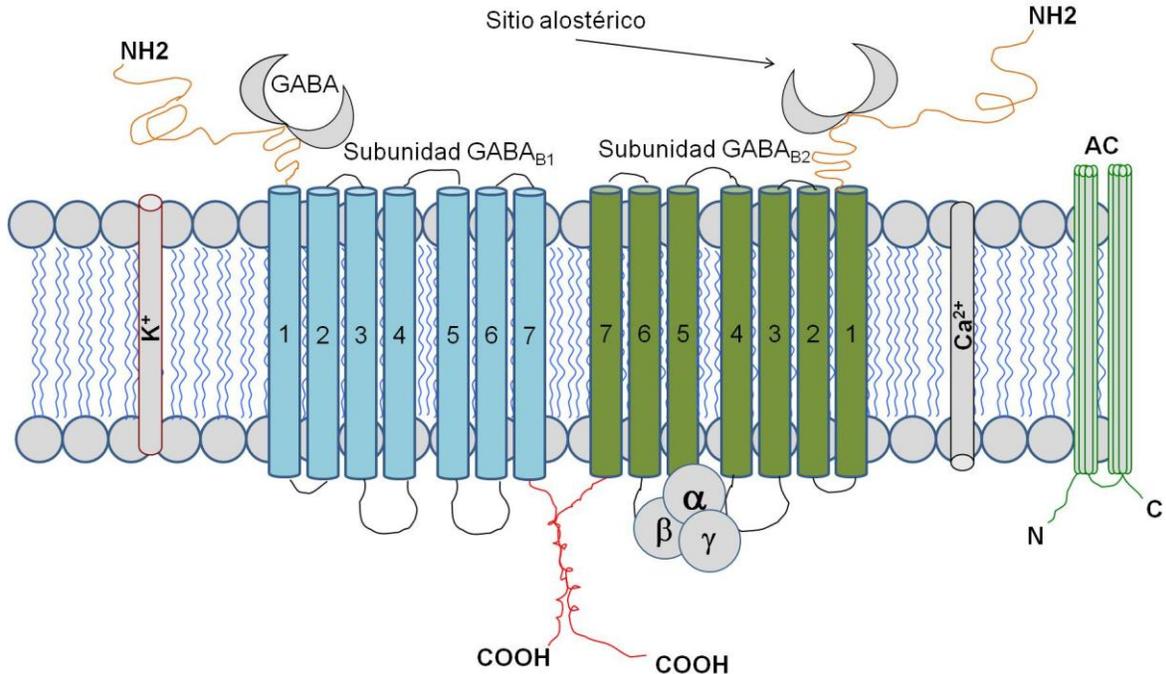


Figura 6. Estructura del receptor GABA<sub>B</sub>. La subunidad GABA<sub>B1</sub> y la subunidad GABA<sub>B2</sub>, ambas constituidas por 7 dominios transmembranales; cada subunidad cuenta, además, con una terminal amino (NH<sub>2</sub>) extracelular larga y una terminal carboxilo (COOH) intracelular corta, además de un sitio alostérico. Adaptado de Feldman et al. (1996).

Inicialmente se pensaba que la subunidad GABA<sub>B1</sub> podía ubicarse en dos sitios distintos, lo cual daba lugar a dos isoformas en el cerebro: GABA<sub>B1a</sub> y GABA<sub>B1b</sub>. Las dos isoformas difieren en secuencia únicamente por la inclusión de un par de dominios en la terminal NH<sub>2</sub> de la isoforma GABA<sub>B1a</sub> (Feldman et al., 1996). Las 3 subunidades fueron clonadas y con ello se confirmó que los receptores GABA<sub>B</sub> se encuentran formados de una subunidad GABA<sub>B1a</sub> o GABA<sub>B1b</sub> y una subunidad GABA<sub>B2</sub> (Chebib & Johnston, 1999). Hoy en día se sabe que existen al menos 8 isoformas de la subunidad GABA<sub>B1</sub> (GABA<sub>B1a-h</sub>), de cuales las isoformas a y b son indispensables para la formación del heterodímero GABA<sub>B</sub>.

La subunidad GABA<sub>B1</sub>, tiene un peso molecular de 130 kDa, está constituida por una cadena de 961 aminoácidos y está codificada por un gen localizado en el cromosoma 6p21.3 en humanos, 20p12 en ratas y 17B1 en

ratones. Por otro lado, la subunidad GABA<sub>B2</sub> tiene un peso molecular de 110 kDa, se encuentra constituida por una cadena de entre 940 y 941 aminoácidos, y se codifica por un gen localizado en el cromosoma 9q22.1-22.3 en humanos, 5q24 en ratas y 4B1 en ratones. La subunidad GABA<sub>B2</sub> no posee la capacidad de permitir la unión del neurotransmisor endógeno o ligandos, pero es la que posee las características necesarias para que se lleve a cabo la activación de la proteína G. Además, la subunidad GABA<sub>B2</sub> funciona como un transportador para la subunidad GABA<sub>B1</sub> llevándola del retículo endoplásmico a la superficie celular. Además, es la función de la subunidad GABA<sub>B2</sub> la que puede ser modificada por los llamados moduladores alostéricos (Filip & Frankowska, 2008).

### *Vías de señalización*

Los receptores GABA<sub>B</sub> producen una inhibición de señales baja y prolongada que modula la liberación de neurotransmisores (Chebib & Johnston, 1999). El receptor GABA<sub>B</sub> puede interactuar con el sistema de segundos mensajeros de la fosfolipasa C y la adenililciclase (Filip & Frankowska, 2008). Además, activa los canales iónicos de K<sup>+</sup> y disminuye la conductancia de Ca<sup>2+</sup> por medio del acoplamiento a las proteínas G (Figura 7). Se acoplan principalmente a las proteínas G del tipo G<sub>iα</sub> y G<sub>oα</sub>. La mayoría de los receptores GABA<sub>B</sub> que se encuentran ubicados presinápticamente, ya sea como autorreceptores o heterorreceptores, median sus efectos a través de la inhibición de los canales de Ca<sup>2+</sup> por medio de las subunidades Gβγ, mientras que los postsinápticos abren los canales de K<sup>+</sup> por medio de las mismas subunidades. En ambos casos el resultado es la hiperpolarización de la neurona (Bettler, Kaupman, Mosbacher & Gassmann, 2004).

En concreto, los receptores GABA<sub>B</sub>, por medio de la proteína G, pueden activar al menos cuatro mecanismos efectores diferentes (Feldman et al., 1996):

1. Inhibición de la adenililciclase tipo I, II y V. Sin embargo, si están presentes los tipos de adenililciclase II, IV y VII, la activación de los receptores GABA<sub>B</sub> puede causar su estimulación (Filip & Frankowska, 2008).
2. Estimulación de la fosfolipasa A2.
3. Incrementa la conductancia de la membrana para el K<sup>+</sup>. Los iones de K<sup>+</sup> salen de la neurona por diferentes vías, incluyendo los canales Kir3, los canales activados por calcio SK y los sensitivos al bario.
4. Inhibición de la conductancia de Ca<sup>2+</sup> dependiente de voltaje.

Los receptores GABA<sub>B</sub> son activados selectivamente por el baclofen pero también hay compuestos que pueden actuar en su sitio alostérico, como el CGP27492 (Chebib & Johnston, 1999). El baclofen fue sintetizado por Heinrich Keberle en 1962 mucho tiempo antes de que el receptor GABA<sub>B</sub> fuera clonado. Es un derivado lipofílico del GABA que se activa después de su administración periférica, posee una alta afinidad por los receptores GABA<sub>B</sub> y una fuerte actividad intrínseca (Filip & Frankowska, 2008). En cuanto a los antagonistas, existen el flaclofen y el 2-hidroxisaclofén, sin embargo, estos compuestos tienen una pobre penetración de la barrera hematoencefálica por lo que posteriormente se propuso el CGP 35348 (Feldman et al., 1996).

### *Relevancia clínica*

La inhibición neural es un proceso regulatorio crítico en la organización y control conductual, por lo que el papel de los receptores GABA<sub>B</sub> ha sido evaluado en torno a diversas afecciones y conductas como agresión (Rudissaar, Pruus, Skrebuhova-Malmros, Allikmets & Matto, 2000) conducta alimentaria (Stratford & Kelley, 1997) conducta sexual (Agmo & Soria, 1997) mediación y percepción del dolor (Enna & McCarson, 2006) regulación cardiovascular (Amano & Kubo, 1993), termorregulación (Quéva et al., 2003), epilepsia (Sperk, Furtinger, Schwarzer & Pirker, 2004) analgesia (Balerio & Rubio, 2002) y adicción (Bartoletti, Ricci & Gaiardi, 2007; Brebner, Childress & Roberts, 2002a). Además, algunos datos

sugieren un papel de los receptores GABA<sub>B</sub> en la ansiedad (Cryan & Kaupmann, 2005; Knapp, Overstreet & Breese, 2007; Partyka et al., 2007) depresión (Cross et al., 1988; Cryan & Kaupmann, 2005; Lloyd et al., 1987; Nowak et al., 2006) y memoria (Dubrovina & Zinov'ev, 2008; Pitsikas, Rigamonti, Cella & Muller, 2003).

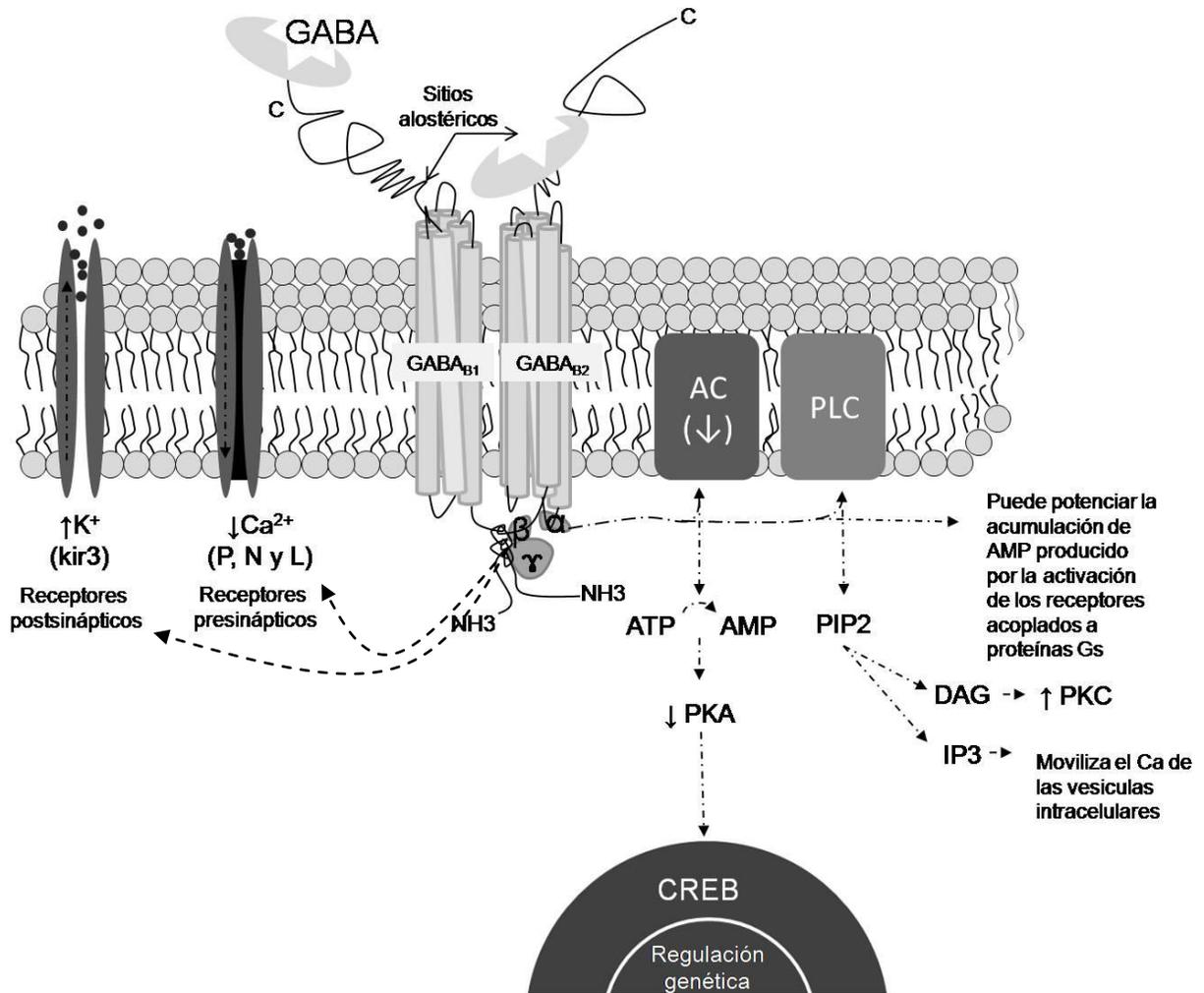


Figura 7. La activación del receptor GABA<sub>B</sub> a partir de la unión del neurotransmisor endógeno o agonistas, tiene como consecuencias principales la activación o inhibición de la adenililciclasa por el desprendimiento de la subunidad α, y la apertura de los canales de K<sup>+</sup> (en receptores postsinápticos) o de Ca<sup>2+</sup> (en receptores presinápticos), por medio de las subunidades βγ de la proteína G. Adaptado de Feldman et al. (1996).

La manipulación de los receptores GABA<sub>B</sub> tiene un considerable potencial terapéutico, de hecho, existen algunas drogas que ya se valen de este mecanismo. Por ejemplo, el agonista GABA<sub>B</sub> baclofen ha sido usado en la clínica para el tratamiento de la espasticidad producida por esclerosis múltiple bajo la indicación de que su efecto terapéutico es mediado por los receptores presinápticos en terminales excitatorias en la médula espinal. Un mecanismo de acción similar parece explicar la acción antinocioceptiva del baclofen, presumiblemente por supresión de la liberación de transmisión sensorial de las terminales aferentes primarias. Adicionalmente, David Roberts y colaboradores hicieron una importante observación a partir de la cuál mostraron que los agonistas GABA<sub>B</sub> reducen el deseo intenso por drogas adictivas en humanos y ratas. Este descubrimiento incitó a la realización de más estudios centrados en los moduladores alostéricos como posibles agentes *anticraving* (Bowery & Smart, 2006). Dichos estudios se basan en que el GABA tiene la capacidad de modular la acción de distintos neurotransmisores como la dopamina (DA) y que algunas drogas adictivas, como ya ha sido mencionado, ejercen sus efectos a partir de la activación del sistema DAérgico, en el llamado circuito de la recompensa.

## **PAPEL DE LOS RECEPTORES GABA<sub>B</sub> EN LA DE LOS EFECTOS CONDUCTUALES DE LOS PSICOESTIMULANTES**

### **Evidencia sobre la participación de los receptores GABA<sub>B</sub> en la adicción a los psicoestimulantes**

La capacidad de los receptores GABA<sub>B</sub> para modular los efectos reforzantes de los psicoestimulantes y otras drogas ha sido ampliamente documentada. Diversos estudios con animales de laboratorio han mostrado la capacidad del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen para disminuir los efectos reforzantes de los psicoestimulantes.

El primer reporte de que la activación de los receptores GABA<sub>B</sub> podría tener efectos benéficos en el tratamiento de la adicción a las drogas fue una patente solicitada en 1978 por Ciba Geigy (ahora Novartis), empresa que reportó que el baclofen atenuaba el síndrome de retirada producido por naloxona en monos dependientes a la morfina (Cousins, Roberts & Wit, 2002). Más adelante, diversos investigadores reportaron que el baclofen atenúa las autoadministraciones iv de psicoestimulantes (Brebner, Phelan & Roberts, 2000a; Brebner, Ahn & Phillips, 2005; Campbell, Lac & Carrol, 1999; Roberts & Andrews, 1997, Roberts, Andrews & Vickers, 1996; Shoaib et al., 1998) y de otras drogas como la nicotina en roedores (Fattore, Cossu, Martellotta & Fratta, 2002). Los resultados obtenidos con este método sugieren que el efecto del baclofen no es resultado de la acción sedante, depresión motora o supresión de conductas apetitivas debido a que el baclofen no elimina las respuestas reforzadas con comida. Aunado al efecto sobre las autoadministraciones se ha reportado que el baclofen reduce los puntos de ruptura generados con programas de razón progresiva reforzados con cocaína (Brebner et al., 2000a) reduce parcialmente la señal discriminativa de la ANF (Miranda et al., 2009) y bloquea el desarrollo y la expresión de sensibilización motora inducida con morfina (Bartoletti et al., 2007).

Una prueba de que los efectos del baclofen se encuentran mediados específicamente por los receptores GABA<sub>B</sub> es que algunos resultados muestran que los antagonistas específicos de este tipo de receptores, como el CGP56433A (Brebner, Wolfgang & Roberts, 2002b) y el 2-hidroxisaclofen (Miranda et al., 2009) bloquean el efecto del baclofen. Adicionalmente algunos estudios muestran que las infusiones de agonistas GABA<sub>B</sub> en el ATV disminuyen la liberación de DA en el NAcc inducida por la administración de ANF, por lo que se ha sugerido que el efecto podría deberse a la activación de los receptores GABA<sub>B</sub> ubicados en el cuerpo de las neuronas DAérgicas del ATV (Brebner et al., 2005). Como se mencionó anteriormente estas neuronas envían proyecciones DAérgicas hacia el NAcc, sitio cuya activación se encuentra relacionada con el sistema de la recompensa cerebral.

En cuanto al avance con humanos también se han realizado estudios en los que se muestra que el baclofen tiene efectos benéficos en pacientes adictos a la cocaína y el alcohol. Existen reportes que indican que el baclofen reduce el deseo intenso por la droga cuando se usa en combinación con terapia grupal (Smith et al., 2004). Sin embargo, el baclofen (Lioresal®) es el único compuesto GABA<sub>B</sub> autorizado para su uso como antiespasmódico en humanos con lesiones de columna o esclerosis múltiple y precisamente estos efectos y su vida media de 4 a 6 horas representan una limitante en el tratamiento de las adicciones (Brebner et al., 2002a).

### **Evidencia sobre la participación de los moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub> en la adicción a los psicoestimulantes**

Evidentemente los efectos adversos del baclofen representan un inconveniente para su uso como terapia farmacológica en la adicción a las drogas (Roberts, 2005). Sin embargo, se ha propuesto que el uso de los moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub> podría representar una alternativa para este problema. Los moduladores alostéricos positivos de los receptores

GABA<sub>B</sub> no tienen actividad intrínseca por sí mismos pero tienen la capacidad de aumentar el efecto producido por el GABA o los agonistas GABA<sub>B</sub> en el sitio activo, lo que probablemente permitiría reducir los efectos colaterales. En analogía con el efecto de las BDZs sobre los receptores GABA<sub>A</sub>, se cree que el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> podría permitir el desarrollo de nuevas drogas que superen terapéuticamente a los agonistas GABA<sub>B</sub> en cuanto a los efectos colaterales adversos que estos producen (Cryan et al., 2004).

La modulación alostérica de los receptores GABA<sub>B</sub> fue identificada por primera vez por Urwyler y sus colaboradores en 1988 (Urwyler et al., 2001). Se trata de un fenómeno que manipula el acoplamiento a la proteína G actuando en un sitio diferente al sitio de unión del neurotransmisor, en la subunidad GABA<sub>B2</sub> (Figura 6). Inicialmente se conocieron dos compuestos con la capacidad de activarlos: el CGP7930 y el GS39783 (Cryan et al., 2004). A partir de estudios con radioligandos se supo que estos dos compuestos incrementan la afinidad y eficacia de los agonistas GABA<sub>B</sub> convencionales actuando en un sitio distinto al sitio de unión del GABA. Por supuesto estos compuestos requieren la presencia del GABA para actuar, de hecho han mostrado ser inefectivos en ausencia del GABA o cuando éste es bloqueado por antagonistas competitivos (Smith et al., 2004). Actualmente se conocen otros dos compuestos que funcionan como moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub>; el CGP13501 y el BHF177. Sin embargo, estos últimos dos compuestos fueron descubiertos recientemente y han sido escasamente evaluados. En el caso particular del CGP7930 (3,5-bis(1,1-Dimethylethyl)-4-hydroxy-β,β-dimethyl-benzenepropanol), se sabe que tiene un peso molecular de 292.46 g/mol y un valor de DE<sub>50</sub> de 5.37 μM. También ha sido reportado que su efecto máximo, al ser administrado sistémicamente, se presenta a los 30 minutos.

En la actualidad existen datos que muestran que los moduladores alostéricos positivos podrían ayudar en el desarrollo de terapias farmacológicas en la adicción a los psicoestimulantes y que carecen de los efectos adversos

típicamente asociados con los agonistas de los receptores GABA<sub>B</sub>. Los moduladores alostéricos positivos CGP7930 y el GS39783 reducen las autoadministraciones de cocaína bajo tres programas de reforzamiento distintos: programas de razón progresiva, razón fija y con un procedimiento de ensayos discretos. En todos los casos los dos compuestos mostraron el mismo patrón, pero el CGP7930 fue el que tuvo efectos mayores. Con los programas de razón progresiva la dosis de 30 mg/kg de CGP7930 redujo los puntos de ruptura más del 50% comparado con el grupo control y se cree que los efectos podrían aumentar si se incrementara la dosis, sin embargo esto no es posible debido al límite de solubilidad del compuesto. A pesar de que no se encontraron evidencias de sedación o ataxia después de la administración de los compuestos, los moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub> sólo redujeron las administraciones cuando la dosis de cocaína era baja (Smith et al., 2004). En otro estudio (Filip, Frankowska & Przegalinski, 2007) también se encontró que el modulador alostérico positivo CGP7930 minimiza las respuestas mantenidas con cocaína sin atenuar las respuestas mantenidas con comida, y que el antagonista GABA<sub>B</sub> SCH50911 bloquea los efectos del CGP7930 aún cuando no actúa en el sitio de unión del modulador, lo que corrobora que su acción depende de la activación del receptor GABAérgico. Otros estudios han mostrado que los moduladores alostéricos positivos también pueden prevenir la adquisición del consumo de alcohol en ratas (Orrù et al., 2005) y reducir la disminución del umbral de recompensa de estimulación intracraneal generado por administraciones repetidas de cocaína (Slattery, Markou, Froestl & Cryan, 2005).

Por otro lado, se ha reportado que aún cuando el baclofen y el CGP7930 disminuyen el consumo de alcohol significativamente, la dosis más alta de baclofen (4.0 mg/kg) tiene un efecto mayor que el efecto de la dosis más alta de CGP7930 (20 mg/kg), además de que el CGP7930 puede aumentar el efecto de la dosis menor de baclofen (Liang et al., 2006). Este efecto ha sido corroborado con estudios que muestran que el CGP7930 puede potenciar la acción inhibitoria del baclofen en las células DAérgicas del ATV en rebanadas de cerebro de ratas, lo

que demuestra que los receptores GABA<sub>B</sub> que modulan el sistema DAérgico pueden ser regulados por la acción de los moduladores alostéricos positivos de dichos receptores (Chen, Phillips, Minton & Sher, 2005).

Los datos anteriores en conjunto, muestran que los moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub> tienen la capacidad de modular algunas de las conductas relacionadas con la adicción, aunque la necesidad de dosis altas y su poca solubilidad dificultan la obtención de efectos mayores. Sin embargo, también se ha mostrado que los moduladores alostéricos positivos pueden aumentar el efecto terapéutico de dosis bajas de baclofen que carezcan de efectos colaterales adversos, por lo que su uso aún brinda una posibilidad en cuanto al tratamiento farmacológico de las adicciones.

## **MÉTODOS CONDUCTUALES PARA EL ESTUDIO DE LA NEUROBIOLOGÍA DE LAS ADICCIONES**

Existen diversos métodos que contribuyen al estudio neurobiológico de las adicciones desde distintos niveles. Probablemente los métodos más detallados en cuanto a su especificidad y precisión en los datos son los métodos neuroquímicos. Por su parte, los métodos de neuroimagen resultan una poderosa y novedosa herramienta que ha permitido el avance en la investigación gracias a los estudios con humanos. Sin embargo, los métodos conductuales también poseen ventajas ya que permiten la evaluación de los organismos en su totalidad, tomando en cuenta los posibles efectos colaterales adversos.

### **Métodos conductuales**

Los métodos conductuales se basan en la interacción entre la acción de una droga y la conducta. A partir de ellos es posible emplear una droga con un mecanismo de acción conocido y estudiar las bases neuroquímicas y fisiológicas de las conductas relacionadas con la adicción, además de cernir familias de drogas para identificar su potencia, el espectro de sus efectos conductuales, la relación estructura-actividad y demás características (Sanchis-Segura & Spanagel, 2006).

Los estudios conductuales con animales de laboratorio brindan ventajas entre las que se encuentra el control riguroso de las condiciones experimentales. Por ejemplo, pueden ser controladas condiciones de vida de los animales como dieta, temperatura ambiental y ciclo luz-oscuridad, que en el caso de los humanos no puede ser regulado con precisión, además de contar con el conocimiento de la historia experimental y genética (Feldman et al., 1996). Una ventaja más es que considerando el cuidado necesario hacia los animales, puede hacerse uso de una cantidad de drogas y técnicas con un grado de invasividad mayor, pruebas que en los humanos resultan imposibles.

Entre los métodos más conocidos para evaluar la contribución de fármacos al tratamiento de patologías específicas de los seres humanos se encuentra el uso de programas de reforzamiento, pruebas con laberintos, pruebas de nado forzado, pruebas de discriminación de drogas, sensibilización motora, etc. Uno de los métodos usados para el estudio de la adicción a los psicoestimulantes es el de la sensibilización motora, dada su importancia, la siguiente sección está enfocada en su descripción.

### *Sensibilización motora*

#### *Concepto*

Se habla de sensibilización cuando la presentación repetida de un estímulo produce un incremento en la respuesta motora. En el caso de las drogas adictivas se ha reportado que los psicoestimulantes pueden causar sensibilización de efectos motores o sensibilización motora (Tella, Schindler & Goldberg, 1991). Actualmente se encuentra bien documentado que la administración repetida de psicoestimulantes puede producir un incremento en los efectos motores que producen, ya sea sobre el movimiento general, conducta rotacional o conductas estereotipias (Browman, Badiani & Robinson, 1998a).

#### *La sensibilización motora como método para el estudio del mecanismo neurobiológico de las adicciones*

Tomando en cuenta que la sensibilización motora es una expresión conductual del mecanismo neurobiológico de las drogas, también puede ser vista como un método para el estudio de las adicciones en el campo de las neurociencias. En este sentido se han realizado estudios dirigidos a evaluar el efecto de diversos fármacos sobre la sensibilización inducida por diferentes psicoestimulantes en dos etapas importantes; el desarrollo y la expresión (Bartoletti et al., 2007).

El desarrollo de la sensibilización motora hace referencia al momento en que se llevan a cabo los cambios fisiológicos y conductuales debido a la administración repetida del fármaco, mientras que la expresión se refiere a los cambios conductuales a largo plazo que resultan de las neuroadaptaciones inducidas por la droga (Lhuillier, Mombereau, Cryan & Kaupmann, 2007). La importancia del estudio de ambas fases radica en que no todos los fármacos producen resultados favorables en las dos etapas.

El método de sensibilización motora ha sido ampliamente usado para la evaluación de compuestos que podrían ayudar en el tratamiento de las adicciones. Las medidas consideradas como índice de la sensibilización motora son diversas. Se ha contabilizado la distancia recorrida por la rata durante su estancia en la caja, ya sea en metros (Lhuillier et al., 2007) o centímetros (Lee et al., 2008; Phillips, Roberts & Lessov, 1997) cruces de un extremo de la caja a otro, cruces verticales y rotaciones en el caso de estudios en que se provocan lesiones (Browman, Badiani & Robinson, 1998b). La medida más usada es la de las cuentas ambulatorias, es decir, la cantidad de veces que el sujeto interrumpe los sensores en una caja de actividad motora diseñada para contar cada interrupción como una cuenta (Bartoletti et al., 2007; Broadbent & Harless, 1999; Caster, Walker & Kuhn, 2007; Itzhak & Martin, 1999; Scholl et al., 2009; Seymour & Wagner, 2008; Sleipness, Sorg & Jansen, 2005).

#### *Parámetros que afectan el desarrollo de sensibilización motora*

El grado de sensibilización desarrollado varía debido al tipo de droga administrado. La mayoría de los estudios de sensibilización motora se han hecho con la administración de ANF (Jodogne, Marinelli, Le Moal & Piazza, 1994) y cocaína (Phillips & Di Cano, 1996; Yeh & Haertzen, 1991). Sin embargo, la sensibilización motora ha sido observada con otras drogas de abuso como el metilfenidato, fencamfamina, morfina, fenciclidina, NMDA, nicotina, etanol (Phillips et al., 1997) y apomorfina (Rowlett, Mattingly & Bardo, 1997). Con algunas drogas

el estudio de la sensibilización es difícil, por ejemplo, con alcohol o morfina cuyos efectos además de estimulantes motores también son depresores. A pesar de la complejidad cada vez hay más reportes que sugieren que el alcohol no sólo puede producir sensibilización motora, sino que también puede producir una sensibilización cruzada ya que el pretratamiento con alcohol aumenta los efectos sobre la actividad motora inducidos por cocaína, ANF y morfina en administraciones posteriores (Robinson & Berridge, 2000).

Además del tipo de droga existen diversos parámetros que pueden variar el grado de sensibilización desarrollada, entre ellos el tipo de droga y la intermitencia con que éstas son administradas. Por ejemplo, para algunas drogas la sensibilización se desarrolla únicamente cuando la administración es intermitente y es más fuerte cuando las inyecciones son ampliamente espaciadas en el tiempo (Robinson & Berridge, 2000). Sin embargo, si la dosis es suficientemente alta los psicoestimulantes y la morfina pueden provocar sensibilización motora incluso después de una sola administración (Sanchis-Segura y Spanagel, 2006). La sensibilización motora producida por psicoestimulantes también se ve afectada por la velocidad con que los compuestos se administran. Cuando la cocaína se administra en un tiempo de entre 3 y 16 segundos *iv* produce una fuerte sensibilización motora, mientras que cuando se administra en un tiempo mayor a los 34 segundos, produce una sensibilización marginal. La dosis es un factor más ya que ocurre una sensibilización mayor después del tratamiento con dosis relativamente altas (Samaha, Li & Robinson, 2002).

La sensibilización también depende del ambiente en que la droga se administra, es decir, la sensibilización se encuentra influida por el aprendizaje. La influencia del ambiente puede verse reflejada en al menos dos formas. La primera es a través de la modulación de la expresión de la sensibilización que ya ha sido inducida a nivel neurológico, lo que se ejemplifica en los estudios de contextos específicos en los que la droga se administra en un contexto y se evalúa en uno diferente en que no se expresa la sensibilización. En estos casos en que la

sensibilización no se expresa, es importante considerar que se ha reportado que la sensibilización ocurre a nivel neurobiológico aún cuando no se exprese a nivel conductual, siendo únicamente la expresión conductual la que se encuentra bajo la influencia de los estímulos condicionados. La segunda forma en que el ambiente puede mediar la sensibilización es durante el desarrollo. En este sentido se ha mostrado que las ratas a las que se les administra una droga en el contexto en el que habitan son menos propensas al desarrollo de la sensibilización (Robinson & Berridge, 2000). El mecanismo neurobiológico a través del cual el ambiente puede modular los efectos producidos por la ANF es desconocido pero por medio de estudios de microdiálisis, se sabe que el ambiente no modifica la capacidad de la ANF para incrementar el flujo de DA en el NAcc, (Browman et al., 1998a) lo cual brinda sustento a la propuesta de que la sensibilización ocurre a nivel neurobiológico, aún cuando no se exprese a nivel conductual.

Una vez producida la sensibilización, los animales pueden permanecer hipersensibles a los efectos motores producidos por las drogas durante meses o incluso años. El grado de persistencia probablemente se debe a una interacción entre los distintos parámetros; la dosis administrada, el intervalo entre los tratamientos, el número de tratamientos, la vía de administración, el ambiente en que la droga es administrada y el sexo de los animales. Algunos otros parámetros individuales que pueden influir son los genéticos, hormonales y de experiencia (Robinson & Berridge, 2000).

Aunque la mayor parte de evidencia sugiere que la sensibilización afecta la actividad motora, también existe evidencia que sugiere que los efectos reforzantes pueden sufrir sensibilización. Por ejemplo, se ha reportado que una primera exposición a drogas adictivas aumenta la adquisición posterior de la autoadministración o el condicionamiento de preferencia de lugar y aumenta los puntos de ruptura generados con programas de razón progresiva. Por ello, se ha propuesto que la capacidad de diferentes drogas para reinstaurar conductas adictivas posiblemente se encuentra relacionada con su capacidad de producir

sensibilización motora. En este sentido se sabe que los compuestos capaces de generar la expresión de sensibilización motora en ratas en que la sensibilización fue desarrollada con morfina o ANF, también tienen la capacidad de causar la reaparición de conductas adictivas previamente extintas. Todos estos datos sugieren una relación importante entre las conductas adictivas y la sensibilización (Robinson & Berridge, 2000).

### *Mecanismo neurobiológico de la sensibilización*

La sensibilización es un proceso neuroadaptativo no asociativo iniciado por la interacción de un ligando con un receptor (Browman et al., 1998a). Tanto el desarrollo como la expresión de los efectos motores inducidos por los psicoestimulantes son importantes porque se asume que el sistema neural que media estos efectos es el mismo, o por lo menos se sobrelapa con el sistema neural responsable de los efectos de recompensa de las drogas (Jayaram & Steketee, 2004; Robinson & Berridge, 2000). En animales sensibilizados se han encontrado neuroadaptaciones tanto pre como postsinápticamente en el sistema DAérgico del NAcc y como ya se mencionó el sistema mesolímbico juega un papel importante en los efectos reforzantes de las drogas (Robinson & Berridge, 2000). Con base en esto se han planteado teorías que sugieren que todas las drogas adictivas poseen acción motora estimulante cuya base es un mecanismo biológico homólogo al mecanismo biológico del reforzamiento positivo, por lo que el efecto reforzante de una droga debería ser interrumpido por cualquier lesión o tratamiento que interrumpa la sensibilización motora (Wise & Bozarth, 1987). Tomando en cuenta este punto de vista, los efectos reforzantes de las drogas y por tanto su capacidad para producir adicción, pueden predecirse a partir de su capacidad para producir sensibilización motora.

Aunque las adaptaciones neurales en las terminales DAérgicas deberían ser suficientes para la expresión de la sensibilización a la ANF, se ha visto que se requiere de la acción en el cuerpo de las neuronas DAérgicas para que se

desarrolle la sensibilización motora (Paulson & Robinson, 1991). Al respecto, se ha observado que las inyecciones de psicoestimulantes en el NAcc provocan hiperactividad pero no ocurre sensibilización con las administraciones repetidas. Ahora bien, dado que el mecanismo principal de los psicoestimulantes es aumentar los niveles de DA en el NAcc pero la sensibilización motora ocurre aún cuando no se produce este aumento, se ha propuesto que este mecanismo no es el único responsable de la sensibilización motora. Una de las neuroadaptaciones propuestas como parte de la sensibilización motora es la supersensibilidad de las respuestas mediadas por los receptores DAérgicos D<sub>1</sub> en el NAcc. La presencia de este efecto se ha demostrado 24 horas después de la última administración de cocaína y hasta un mes después. De la misma forma, la sensibilización motora se ha caracterizado como un fenómeno persistente pero no permanente ya que se ha observado su disminución después de dos meses, de forma similar a lo observado en los receptores DAérgicos D<sub>1</sub> (Henry & White, 1995).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A partir del conocimiento que hoy en día se tiene sobre la estructura del receptor GABA<sub>B</sub> y el sitio alostérico, se ha propuesto una alternativa para resolver la problemática de los efectos colaterales del baclofen. Los moduladores alostéricos positivos actúan en la subunidad GABA<sub>B2</sub> del receptor, realzando el enlace y la función de los agonistas GABA<sub>B</sub> (Chen et al., 2005). Es decir, aún cuando no poseen una actividad intrínseca por sí mismos y se encuentran en un sitio apartado del sitio de unión del receptor, interactúan con la proteína G incrementando los efectos producidos por la activación del receptor en el sitio activo. Los resultados de diferentes investigaciones han mostrado que dos moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub> actúan de forma similar al baclofen, el CGP7930 y el GS39783 (Roberts, 2005). Aunque los mejores resultados se han obtenido con el CGP7930, estos han sido en menor grado que con el uso de baclofen. Por ejemplo, se ha reportado que la administración de CGP7930 y GS39783 reduce las autoadministraciones de cocaína (Smith et al., 2004).

Los moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub> también podrían representar una forma de incrementar la función del receptor permitiendo así el uso de dosis más bajas de los agonistas y reduciendo los efectos colaterales que producen estos. Por ejemplo, se ha reportado que el baclofen reduce las autoadministraciones de etanol en un programa de razón fija, y que el mismo efecto puede ser imitado al administrar una dosis más baja de baclofen más una dosis baja del modulador alostérico positivo CGP7930 (Liang et al., 2006). En este sentido, si el modulador posee una duración de acción más prolongada, una vida media más larga y atraviesa mejor la barrera hematoencefálica, los beneficios en el desarrollo de nuevas técnicas terapéuticas serían significativos (Ong & Kerr, 2005). Por ello, la combinación de moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub> y agonistas como el baclofen, podría representar una mejor estrategia para disminuir las conductas relacionadas con la adicción a las drogas.

Una estrategia para evaluar la combinación de moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub> y dosis bajas de agonistas como el baclofen y otros en las conductas relacionadas con el abuso de los psicoestimulantes como la ANF, es la utilización de procedimientos conductuales como la sensibilización motora. Como ha sido mencionado, el método de sensibilización motora se basa en el aumento progresivo en la actividad motora y conductas estereotipadas producido por la administración repetida de ANF o psicoestimulantes relacionados, fenómeno también conocido como tolerancia invertida. Este modelo resulta útil ya que se ha sugerido que los cambios neuroadaptativos que regulan el desarrollo y expresión de la sensibilización también subyacen a varias facetas de la adicción a las drogas en humanos, siendo de importancia la evaluación de ambas etapas.

### **Hipótesis**

Si se administra el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 en combinación con una dosis baja de baclofen, se reducirá el desarrollo y la expresión de sensibilización motora producida por la administración repetida de anfetamina.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar los efectos del agonista GABA<sub>B</sub>, baclofen y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub>, CGP7930 en la sensibilización locomotora inducida por ANF.

### **Objetivos específicos**

- A. Evaluar los efectos del antagonista D<sub>2</sub> racloprida, del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen y del modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre la actividad motora. El antagonista D<sub>2</sub> racloprida fue empleado como un control positivo que permita evitar un falso negativo en relación al efecto del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen y el modulador alostérico positivo GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre la sensibilización inducida por ANF.
- B. Evaluar los efectos del antagonista D<sub>2</sub> racloprida, sobre el desarrollo y la expresión de la sensibilización motora inducida por la administración de ANF como un control positivo.
- C. Evaluar los efectos del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen y del modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre el desarrollo de la sensibilización motora inducida por la administración de ANF.
- D. Evaluar los efectos del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen y del modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre la expresión de la sensibilización motora inducida por la administración de ANF.

Los objetivos antes mencionados se agruparán en los siguientes experimentos:

#### EXPERIMENTO 1

Grupos control necesarios.

#### EXPERIMENTO 2

Evaluación de los efectos del antagonista D2 racloprida sobre el desarrollo y expresión de sensibilización motora inducida por ANF.

#### EXPERIMENTO 3

Evaluación de los efectos de la administración conjunta de una dosis baja de baclofen y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre el desarrollo de sensibilización motora.

#### EXPERIMENTO 4

Evaluación de los efectos de la administración conjunta de una dosis baja de baclofen y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre la expresión de sensibilización motora.

## MÉTODO GENERAL

Antes de iniciar los experimentos de sensibilización motora se realizaron pruebas para comprobar que la administración de los compuestos no tuviera efectos sobre la actividad motora. Estas pruebas se llevaron a cabo abarcando las mismas fases que los experimentos de sensibilización. Como se mencionó con anterioridad, la sensibilización motora puede ser evaluada en dos etapas distintas; el desarrollo y la expresión. Las dos etapas son importantes por lo que ambas fueron evaluadas con el mismo procedimiento, la única variación fue el momento en que se administraron los compuestos.

### *Sujetos:*

Trescientas noventa ratas macho de la cepa Wistar de aproximadamente 120 días de edad al inicio de los experimentos, y con un peso promedio de 200 a 250 g provenientes del Bioterio General de la FES-Iztacala. Las ratas se alojaron individualmente en cajas-hogar de acero inoxidable, bajo un ciclo luz-obscuridad (luz: 8:00 am - 8:00 pm) y a una temperatura ambiente de  $23(\pm 1)$  grados centígrados. La comida y el agua siempre estuvieron disponibles.

### *Aparatos:*

La actividad motora de las ratas fue cuantificada en cajas de actividad de 40x40x30 cm (MED-Associates, St. Albans, VT, USA. Modelo ENV-515) equipadas con una matriz de 8x8 emisores de luz infra roja colocada cuatro centímetros arriba del piso de la caja. Las interrupciones de luz infra roja se

detectaron a través de una interfase que registró en intervalos de cinco min en una PC.

*Drogas:*

Se utilizó sulfato de d-anfetamina (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), antagonista de los receptores D<sub>2</sub> racloprida (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), agonista de los receptores GABA<sub>B</sub> baclofen (Tocris, Ballwin, MO, USA) y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 (Tocris, Ballwin, MO, USA) (Tabla 3). Todas las drogas fueron disueltas en solución isotónica salina al 0.9% y administradas en un volumen de 1.0 ml/kg.

*Procedimiento:*

Los experimentos de sensibilización locomotora tuvieron como base un procedimiento general (Figura 8). Cada experimento se llevó a cabo en tres fases: habituación a las cajas de actividad motora, desarrollo de la sensibilización locomotora y retos farmacológicos.

**Tabla 3**  
**Compuestos utilizados**

Compuesto	Acción principal	Dosis	Dilución	Volumen
Sulfato de d-Anfetamina	Bloquea el DAT	1mg/kg	Salina	1 ml/kg
Racloprida	Antagonista D <sub>2</sub>	0.01, 0.03 y 0.3 mg/kg	Salina	1ml/kg
Baclofen	Agonista GABA <sub>B</sub>	2.0, 3.0 y 4.0 mg/kg	Salina	1 ml/kg
CGP7930	Modulador alostérico positivo de los receptores GABA <sub>B</sub>	5.0, 10.0 y 20.0 mg/kg	Etanol y tween 80 al 20%. Aforado con salina	1 ml/kg

Cada dosis representa un grupo n=10. Las dosis entre paréntesis se expresan en mg/kg.

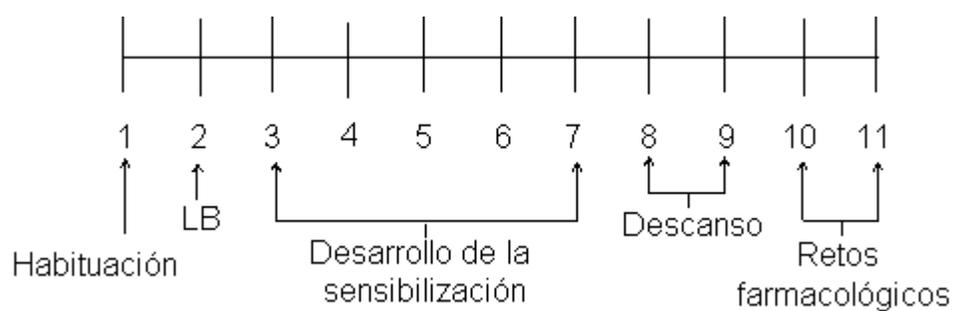


Figura 8. Línea del tiempo que siguieron los experimentos realizados.

Habitación a las cajas de actividad. El primer día las ratas fueron introducidas en las cajas durante una hora por día. Además, 15 min antes de cada sesión las ratas se colocaron en las cajas de actividad para eliminar el conteo de la conducta exploratoria. Una vez transcurridos los 15 min las ratas fueron regresadas a sus cajas hogar para la administración de los compuestos dependiendo del experimento.

Línea base. En el segundo día, las ratas recibieron una inyección vía intraperitoneal (ip) de 1.0 ml/kg de salina, después fueron introducidas en las cajas de actividad motora durante 60 min para obtener el registro de la actividad motora.

Desarrollo de la sensibilización locomotora. De los Días tres al siete las ratas recibieron la administración de una inyección ip de 1.0 ml/kg de salina o de cada uno de los compuestos a evaluar, dependiendo del experimento. Posteriormente fueron introducidas en las cajas de actividad motora durante una hora para obtener el registro de la actividad motora.

Retos farmacológicos. Se llevaron a cabo dos retos farmacológicos. En el Día 10 las ratas recibieron la administración de una inyección ip de 1.0 ml/kg de salina y fueron introducidas en las cajas de actividad motora para contabilizar su actividad durante 60 min, con el fin de verificar si existía actividad condicionada significativa.

En el Día 11, las ratas recibieron la administración de una inyección ip de 1.0 ml/kg de salina o de cada uno de los compuestos a evaluar dependiendo del experimento. Posteriormente fueron introducidas en las cajas de actividad motora durante 60 min para obtener el registro de la actividad motora.

### *Análisis estadístico:*

En todos los experimentos se registró la actividad total durante un período de 60 min en los que se registró la distancia recorrida (cm). Aunque las cajas de actividad arrojan algunos otros datos tales como las cuentas ambulatorias, cuentas verticales y otras, en todas ellas se encontraron patrones similares por lo que únicamente se muestran los datos de distancia recorrida.

Los datos del desarrollo de la sensibilización y las administraciones repetidas realizadas en el primer experimento, fueron analizados con un ANOVA factorial de dos vías de medidas repetidas con la dosis del compuesto de prueba como factor entre sujetos y los Días uno, dos, tres, cuatro y cinco como medidas repetidas. En las gráficas se muestra la media diaria de cada uno de los grupos  $\pm$  error estándar. Los retos farmacológicos fueron analizados con un ANOVA de una vía y en las gráficas se muestra la media de cada grupo  $\pm$  error estándar.

Cuando los ANOVAs fueron significativos se llevó a cabo un análisis de comparaciones posteriores con la prueba Tukey. En todas las pruebas, la probabilidad de ocurrencia del error Tipo I fue de 0.05.

## EXPERIMENTO 1

### *Grupos control necesarios*

Este experimento se llevó a cabo con la finalidad de descartar que los compuestos afectaran la actividad motora, ya sea por su actividad intrínseca o la forma en que fueron administrados (volumen de vehículo o número de administraciones). Se decidió hacer estas pruebas previas debido a que algunos compuestos han mostrado tener un efecto colateral sobre la actividad motora. Por ejemplo, se ha observado que tanto la administración crónica como la aguda de 0.15 mg/kg de haloperidol, disminuyen significativamente la actividad (Wiley & Rhys, 2008) y dañan la coordinación motora (Nowakowska, Kis, Czubak, Glowacka & Matschay, 2007). De igual forma, se ha reportado que el agonista GABA<sub>B</sub> baclofen produce un deterioro motor, además de otros efectos colaterales adversos como la sedación e hipotermia. Estos efectos negativos sobre la actividad motora podrían producir falsos positivos al emplear métodos basados en el conteo de la actividad motora, como en el caso de la sensibilización conductual.

#### *Sujetos:*

Ciento cincuenta ratas con las especificaciones del Método General.

#### *Aparatos:*

Cajas de actividad motora con las características ya descritas en el Método General.

### *Drogas:*

Se utilizó el agonista GABA<sub>B</sub> baclofen, el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 y el antagonista D<sub>2</sub> racloprida y ANF, todos preparados de acuerdo con las características del Método General.

### *Procedimiento:*

Se llevó a cabo de la forma descrita en el método general (Figura 8) con la única excepción de que no se realizaron retos farmacológicos. En el Día uno y dos se llevaron a cabo la habituación y la línea base de acuerdo con el Método General. De los Días 3 al 7 las ratas fueron introducidas en las cajas de actividad motora durante 10 min, posteriormente fueron sacadas para administrarles diferentes volúmenes de salina en una dos o 3 administraciones (Tabla 4). Al primer grupo se le administró una sola inyección con 1 ml/kg de salina; al segundo grupo se le administraron dos inyecciones, una tras otra de 1ml/kg de salina; al tercer grupo se le administraron tres inyecciones continuas de 1ml/kg de salina. Tras las inyecciones, las ratas fueron introducidas nuevamente en las cajas para contabilizar su actividad durante 60 min.

### *Análisis estadístico*

Los datos obtenidos durante el desarrollo de la sensibilización fueron analizados de acuerdo a lo descrito en el Método General.

**Tabla 4**

**Diseño para la evaluación de los efectos de la administración de diferentes volúmenes del vehículo y dosis de los compuestos a evaluar sobre la actividad motora.**

<b>Nombre de los grupos Tratamiento repetido</b>	
Días 3 al 7	
SAL	SAL
SAL 2	SAL + SAL
SAL 3	SAL + SAL + SAL
SAL	SAL
RACL1	RAC (0.01)
RAC2	RAC (0.03)
RAC3	RAC (0.1)
SAL	SAL
BAC2	BAC (2.0)
BAC3	BAC (3.0)
BAC4	BAC (4.0)
SAL	SAL
CGP5	CGP7930 (5.0)
CGP10	CGP7930 (10.0)
CGP20	CGP7930 (20.0)

Cada dosis representa un grupo de ratas ( $n=10$ ). Las dosis entre paréntesis se expresan en mk/kg

## Resultados

### *Efectos de la administración de diferentes volúmenes y número de administraciones*

En la Figura 9 pueden observarse los resultados obtenidos al administrar diferentes volúmenes del salina con diferente número de administraciones. En ella se puede observar que no hubo diferencias entre los grupos, lo cual fue confirmado con un ANOVA de una vía en el caso de la línea base,  $F(2,29)=0.42$ ,  $p>0.05$ , y un ANOVA factorial de medidas repetidas en el caso del tratamiento repetido,  $F(2,26)=4.01$ ,  $p>0.05$ .

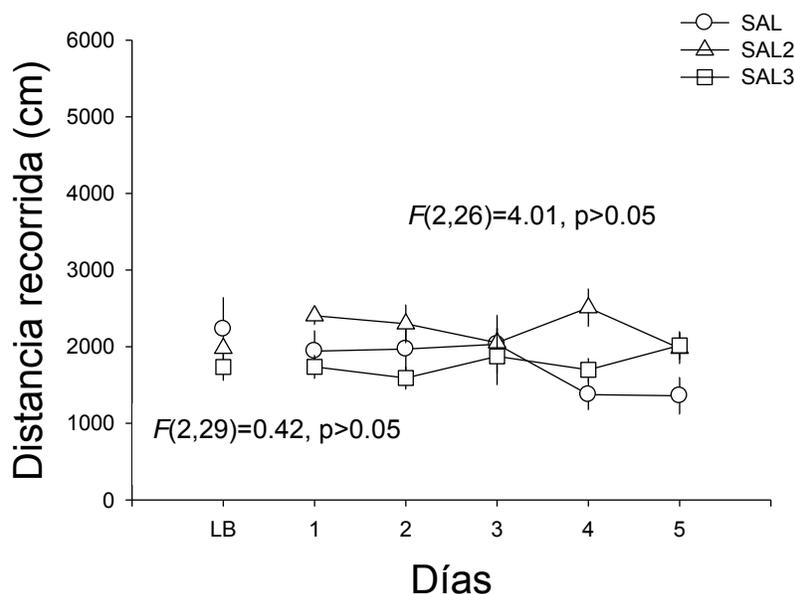


Figura 9. Se muestra la distancia recorrida en cm y los símbolos representan la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. Cada grupo recibió la administración de diferentes volúmenes y número de inyecciones de salina

### *Efectos de la administración de diferentes dosis de racloprida sobre la actividad motora*

Ninguna de las dosis administradas del antagonista  $D_2$  racloprida tuvieron efecto sobre la actividad motora. Estos datos pueden observarse en la Figura 10. En ella se aprecia como durante la línea base los grupos no presentaban diferencias estadísticas significativas en cuanto a la distancia recorrida (cm),  $F(3,39)=0.20$ ,

$p>0.05$ ) y esta situación perduró durante los 5 días de tratamiento repetido; ninguna de las dosis de racloprida (0.01, 0.03 y 0.3 mg/kg) tuvo algún efecto significativo sobre la actividad motora,  $F(3,36)= 1.43$ ,  $p>0.05$ .

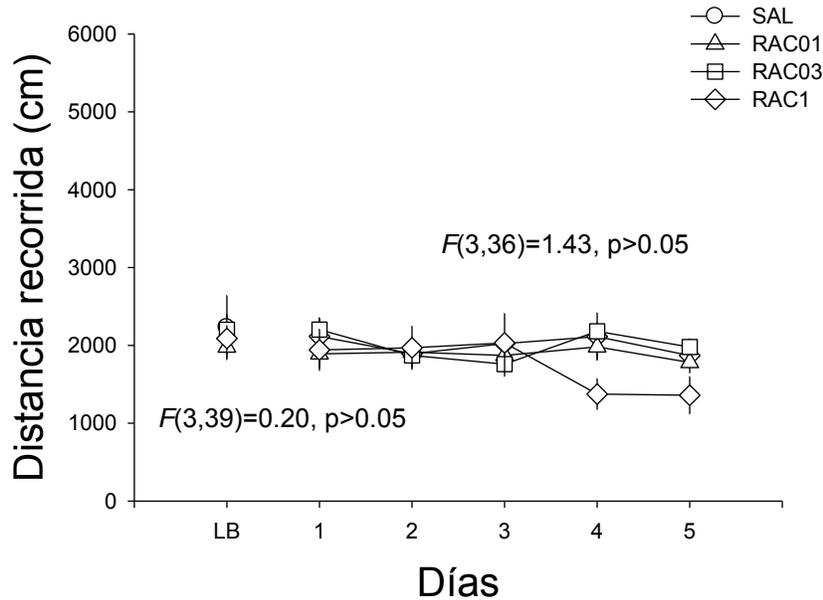


Figura 10. Se muestra la distancia recorrida en cm y los símbolos representan la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A cada grupo se le administraron diferentes dosis del antagonista D2 racloprida del Día 1 al Día 5.

#### *Efectos de la administración de diferentes dosis de baclofen sobre la actividad motora*

La Figura 11 muestra los datos obtenidos al administrar diferentes dosis del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen (1.0, 2.0 y 3.0 mg/kg). El análisis estadístico de estos datos confirma que no existieron diferencias significativas entre la actividad motora de los grupos ni durante la línea base,  $F(3,39)=0.17$ ,  $p>0.05$ , ni durante el tratamiento repetido,  $F(3,36)=2.64$ ,  $p>0.05$ .

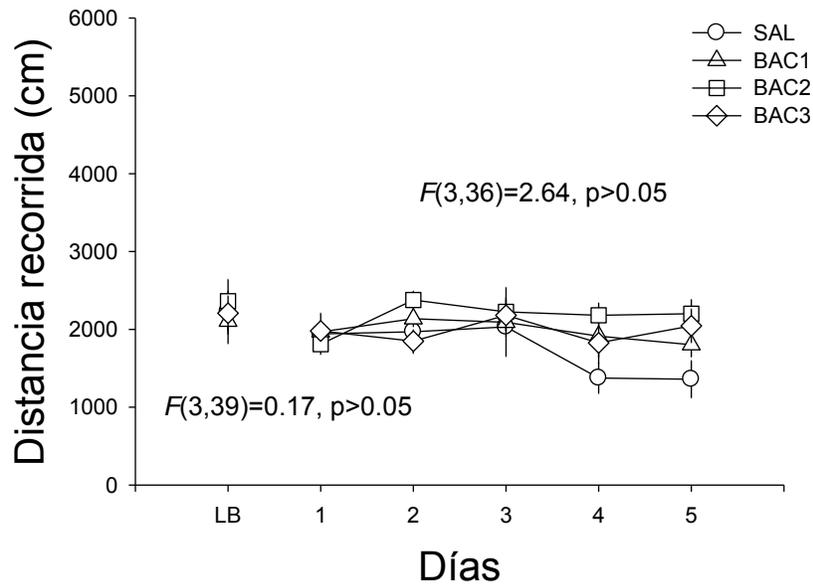


Figura 11. Se muestra la distancia recorrida en cm y los símbolos representan la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A cada grupo se le administraron diferentes dosis del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen del Día 1 al Día 5.

*Efectos de la administración de diferentes dosis de CGP7930 sobre la actividad motora*

Finalmente, la Figura 12 muestra el efecto de la administración de diferentes dosis del modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 (5.0, 10.0 y 20.0 mg/kg) sobre la actividad motora. Las pruebas estadísticas mostraron que la administración de diferentes dosis de CGP7930 no produjo efectos significativos. Los grupos presentaron una actividad motora igual tanto en la línea base,  $F(3,39)=1.39$ ,  $p>0.05$ , como durante el tratamiento repetido,  $F(3,36)=1.41$ ,  $p>0.05$ .

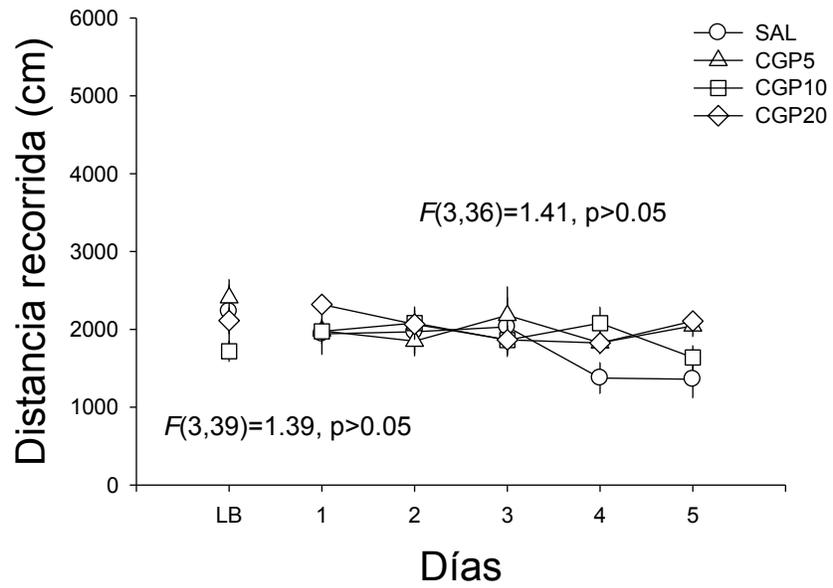


Figura 12. Se muestra la distancia recorrida en cm y los símbolos representan la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A cada grupo se le administraron diferentes dosis del modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 del Día 1 al Día 5.

## Conclusiones

El principal objetivo de esta serie de experimentos fue evaluar los efectos de la administración del antagonista D<sub>2</sub> racloprida, el agonista GABA<sub>B</sub> baclofen y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre la actividad motora, así como la administración de diferente número de inyecciones y volumen del vehículo, con el fin de evaluar que estas condiciones sean adecuadas para ser usadas en experimentos en los que el registro y análisis de la actividad motora es la base. En este sentido, aunque existen reportes de que uno de los efectos colaterales tanto del baclofen como de los antipsicóticos similares a la racloprida, es la disminución de la actividad motora, nuestros resultados muestran que en las dosis utilizadas, ninguno de los compuestos disminuye ni aumenta la actividad motora. La diferencia podría radicar principalmente en las dosis empleadas pues se ha encontrado afectación motora con dosis de racloprida a partir de 0.6 mg/kg y de baclofen a partir de 5.6 mg/kg.

Los resultados también indican que el administrar diferentes volúmenes del vehículo empleado, o la administración en diferentes inyecciones, no altera de ninguna forma la actividad motora.

## EXPERIMENTO 2

### ***Evaluación de los efectos del antagonista D<sub>2</sub> racloprida sobre el desarrollo y expresión de sensibilización motora inducida por ANF***

En este experimento se evaluó el efecto de la administración del antagonista D<sub>2</sub> racloprida como un control positivo, dado que el principal mecanismo de acción de los psicoestimulantes es el aumento de las concentraciones extracelulares de DA en el NAcc en donde los principales receptores DAérgicos relacionados con conductas adictivas son los receptores D<sub>2</sub>. Este experimento nos permitió corroborar que el método empleado fuera lo suficientemente sensible para detectar el efecto producido por una droga que ya ha sido relacionada con los efectos producidos por psicoestimulantes. Su efecto fue evaluado tanto en la fase de desarrollo como en la fase de expresión que como ya se mencionó, hacen referencia al momento en que se llevan a cabo los cambios fisiológicos y conductuales debido a la administración repetida del fármaco (desarrollo), y al momento en que ya se han realizado los cambios que perdurarán a largo plazo (expresión) (Lhuillier, Mombereau, Cryan & Kaupmann, 2007).

#### *Sujetos:*

Ochenta ratas con las especificaciones del Método General.

#### *Aparatos:*

Cajas de actividad motora con las características ya descritas en el Método General.

#### *Drogas:*

Se utilizó el agonista GABA<sub>B</sub> baclofen, el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 y el antagonista D<sub>2</sub> racloprida y ANF, todos preparados de acuerdo con las características del Método General.

*Procedimiento:*

Se llevó a cabo de la forma descrita en el método general (Figura 8). En el Día uno y dos se llevaron a cabo la habituación y la línea base de acuerdo con el Método General. De los Días 3 al 7 las ratas fueron introducidas en las cajas de actividad motora durante 10 min, posteriormente fueron sacadas para administrarles diferentes dosis de los compuestos a evaluar más anfetamina (desarrollo) o únicamente anfetamina (expresión) (Tabla 5). Tras la administración de los compuestos, las ratas fueron introducidas nuevamente en las cajas para contabilizar su actividad durante 60 min.

El Día 10 todos los grupos recibieron la administración de salina y se evaluó su actividad durante 60 min. Finalmente el Día 11, tras los 10 min de habituación a las ratas se les administró ANF (desarrollo) o las dosis de racloprida a evaluar más ANF (expresión).

*Análisis estadístico:*

Los datos obtenidos durante el desarrollo de la sensibilización fueron analizados de acuerdo a lo descrito en el Método General.

**Tabla 5****Diseño para la evaluación de los efectos del antagonista D<sub>2</sub> racloprida sobre el desarrollo y la expresión de sensibilización motora producida por ANF.**

Nombre de los grupos	Tratamiento repetido	Retos farmacológicos	
		Días 3 a 7	Día 10      Día 11
<b>Desarrollo de la sensibilización</b>			
SAL	Salina	Salina	ANF (1.0)
ANF	ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
RAC0.01	Racloprida (0.01) + ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
RAC0.03	Racloprida (0.03) + ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
RAC0.3	Racloprida (0.3) + ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
<b>Expresión de la sensibilización</b>			
SAL	ANF (1.0)	Salina	Salina
ANF	ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
RAC0.01	ANF (1.0)	Salina	Racloprida (0.01) + ANF (1.0)
RAC0.03	ANF (1.0)	Salina	Racloprida (0.03) + ANF (1.0)
RAC0.3	ANF (1.0)	Salina	Racloprida (0.3) + ANF (1.0)

Cada dosis evaluada representa un grupo (n=10). Las dosis entre paréntesis, se expresan en mg/kg.

## Resultados

### *Desarrollo de la sensibilización*

La administración repetida de ANF produjo un aumento progresivo de la actividad motora o sensibilización, aumento que perduró tras los dos días de descanso y se presentó en el reto farmacológico con ANF como mayor distancia recorrida que el grupo que recibió únicamente una administración de ANF.

La administración de racloprida en combinación con la ANF atenuó el desarrollo de sensibilización motora. En la Figura 13 se observa como el primer día los 5 grupos presentaban el mismo nivel de movimiento,  $F(4,49)=1.27$ ,  $p>0.05$ . Sin embargo, durante el desarrollo de la sensibilización se encontraron diferencias entre los grupos,  $F(4,45)=60.95$ ,  $p<0.05$ , además de diferencias intragrupo debidas al número de ensayo,  $F(4,180)=15.38$ ,  $p<0.05$ , y a la interacción entre el número de ensayo y el grupo,  $F(4,49)=1.27$ ,  $p<0.05$ . Las comparaciones posteriores señalaron que los grupos ANF, RAC0.01 y RAC0.03 son distintos del grupo SAL, mientras que tanto el grupo SAL como el grupo RAC0.3 son distintos del grupo ANF.

En cuanto a los retos farmacológicos, durante el reto farmacológico con salina se encontró una actividad significativamente más elevada en los grupos que recibieron ANF durante el desarrollo que en el grupo SAL,  $F(4,49)=2.89$ ,  $p<0.05$  (Figura 14 izquierda). La administración de ANF en el Día 11 produjo diferencias significativas,  $F(4,49)=1.99$ ,  $p<0.05$ . La prueba de comparaciones posteriores indicó diferencias entre el grupo SAL y el grupo ANF (Figura 14 derecha).

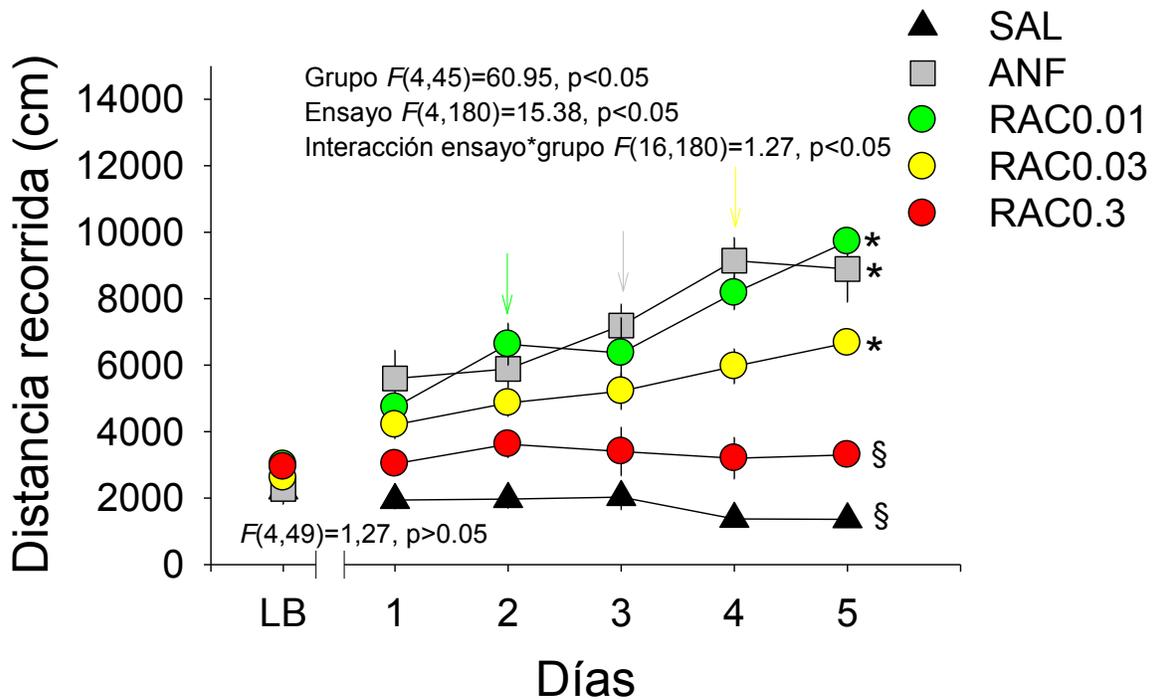


Figura 13. Se muestra la distancia recorrida en cm y los símbolos representan la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A cada grupo se le administraron diferentes dosis de racloprida más una dosis fija de ANF del Día 1 al Día 5. \*diferencias significativas respecto del grupo SAL, § diferencias significativas respecto del grupo ANF ( $p<0.05$ ). Las flechas indican el momento en que se encontraron diferencias significativas respecto del primer día.

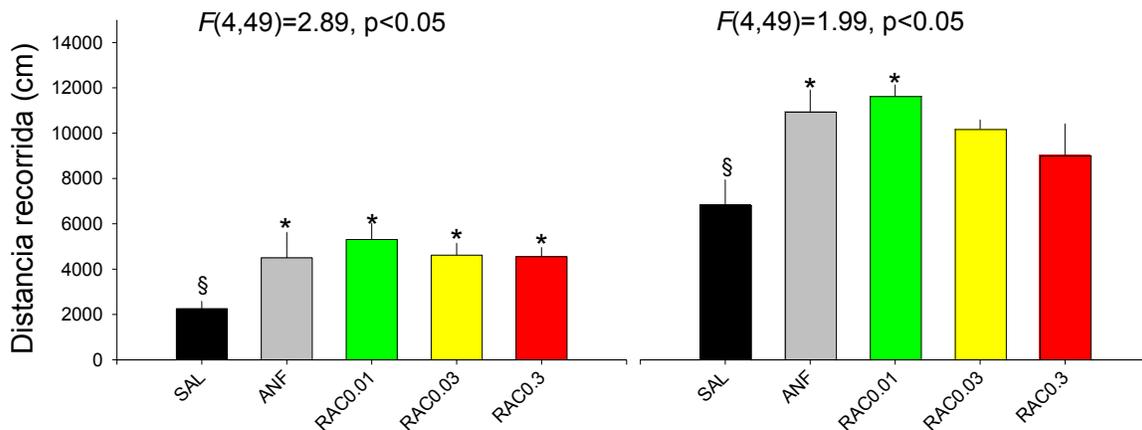


Figura 14. Se muestra la distancia recorrida en cm, cada barra representa la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A la izquierda el reto farmacológico con salina y a la derecha el reto farmacológico con amfetamina. \*diferencias significativas respecto del grupo SAL, § diferencias significativas respecto del grupo ANF ( $p<0.05$ ).

### *Expresión de la sensibilización*

La administración de racloprida inhibió la expresión de la sensibilización motora de forma dependiente de la dosis aunque la dosis más alta lo hizo de forma parcial. La Figura 15 muestra estos resultados. En el recuadro superior se ve cómo la sensibilización se desarrollo de acuerdo a los parámetros normales, aunque al inicio de los experimentos no había diferencias significativas entre los grupos,  $F(4,49)=1.69$ ,  $p>0.05$ , tras la primera administración se observó un incremento progresivo en la actividad motora. Al analizar estadísticamente los datos obtenidos durante la fase de desarrollo se encontraron diferencias significativas entre los grupos,  $F(4,45)=56.50$ ,  $p<0.05$ , y diferencias intragrupo debidas al tipo de ensayo,  $F(4,180)=48.74$ ,  $p<0.05$ , y a la interacción entre el número de ensayo y el grupo,  $F(16,180)=6.94$ ,  $p<0.05$ . Las comparaciones posteriores mostraron que el grupo SAL era distinto al resto de los grupos.

En cuanto al reto salina, se encontraron diferencias significativas entre los grupos que recibieron ANF durante el desarrollo y el grupo SAL,  $F(4,49)=3.28$ ,  $p<0.05$ . Por último durante la prueba, el reto ANF, se encontraron diferencias significativas, tanto el grupo ANF como el grupo que recibió la dosis más baja de racloprida fueron estadísticamente más elevados que el grupo SAL  $F(4,49)=3.93$ ,  $p<0.05$ .

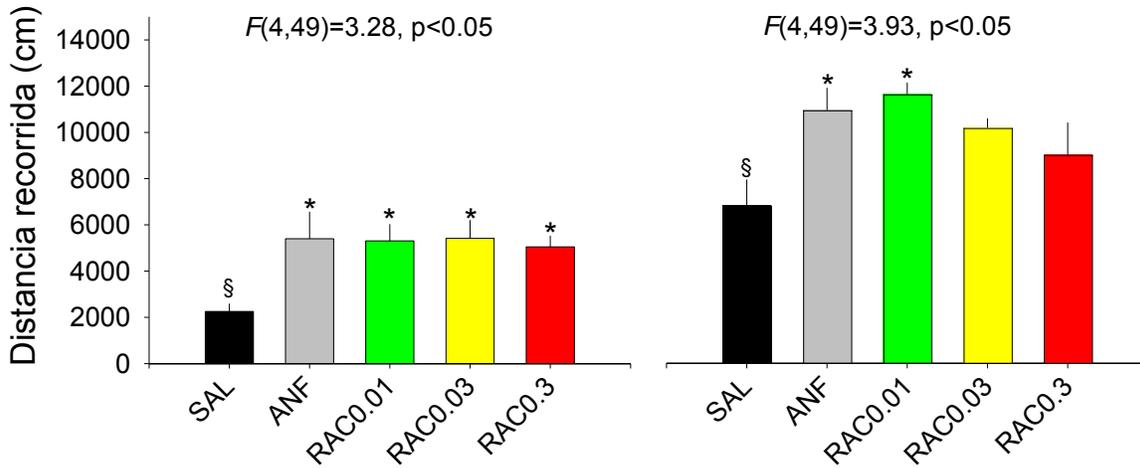
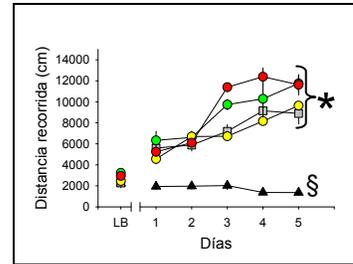


Figura 15. Se muestra la distancia recorrida en cm, cada barra representa la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A la izquierda el reto farmacológico con salina y a la derecha el reto farmacológico con diferentes dosis de racloprida más amfetamina. En el recuadro superior, se muestra el desarrollo de sensibilización con la administración repetida de una dosis fija de amfetamina a todos los grupos, con excepción del grupo salina. \*diferencias significativas respecto del grupo SAL, § diferencias significativas respecto del grupo ANF ( $p < 0.05$ ).

## Conclusiones

Este experimento fue diseñado para funcionar como un control positivo que nos permitiera evitar falsos negativos en la evaluación del efecto de la administración conjunta del baclofen y los moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub> en la expresión de sensibilización motora inducida por ANF.

### *Desarrollo de la sensibilización*

La administración de racloprida fue empleada como un control positivo. Con estos experimentos se encontró que la racloprida en su dosis más elevada es capaz de atenuar el desarrollo de sensibilización motora inducida por ANF. Efecto visible tanto en la fase de desarrollo como en el reto farmacológico con ANF. Aunque el efecto podría ser mayor usando dosis mayores de racloprida, se tienen reportes de que dosis mayores a las empleadas en este experimento disminuyen la actividad motora por lo que resultaría imposible obtener datos confiables. Estos resultados coinciden con reportes acerca del efecto de la racloprida sobre otras conductas relacionadas con la adicción, por ejemplo la racloprida puede prevenir completamente la recaída en el consumo de cocaína ante estímulos asociados sin alterar la actividad motora (Cervo, Carnovali, Stark & Mennini, 2003).

### *Expresión de la sensibilización*

Se encontró que la racloprida puede atenuar la expresión de sensibilización motora inducida por ANF de forma parcial, ya que aunque no se encontraron diferencias significativas respecto del grupo que recibió la primera vez ANF durante el último reto, tampoco se encontraron diferencias significativas respecto del grupo que sí desarrolló sensibilización motora.

### EXPERIMENTO 3

#### ***Evaluación de los efectos de la administración conjunta de una dosis baja de baclofen y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre el desarrollo de sensibilización motora***

Este experimento fue diseñado para evaluar el efecto de la administración conjunta del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre el desarrollo de la sensibilización motora inducida por ANF.

#### *Sujetos:*

Ciento diez ratas con las especificaciones del Método General.

#### *Aparatos:*

Cajas de actividad motora con las características ya descritas en el Método General.

#### *Drogas:*

Se utilizó el agonista GABA<sub>B</sub> baclofen, el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 y ANF, todos preparados de acuerdo con las características del Método General.

#### *Procedimiento:*

Los experimentos para evaluar el efecto de los compuestos sobre el desarrollo de la sensibilización siguieron el curso especificado en el Método General (Figura 8). La habituación, la línea base y los retos farmacológicos se

llevaron a cabo de acuerdo con el Método General. Los compuestos a evaluar fueron administrados del Día tres al siete.

Desarrollo de la sensibilización. De los Días tres al siete, las ratas recibieron la administración de una inyección ip de 1.0 ml/kg de salina o de cada uno de los compuestos a evaluar más ANF (1mg/kg) (Tabla 6). Posteriormente fueron introducidas en las cajas de actividad motora durante 60 min para obtener el registro de la actividad motora.

Retos farmacológicos: Los retos farmacológicos se llevaron a cabo de acuerdo con el método general. En el Día 10 todas las ratas recibieron una inyección vía ip de salina antes de ser introducidas a las cajas de actividad motora, mientras que en el Día 11 todas las ratas recibieron una inyección vía ip de ANF antes de ser introducidas en las cajas de actividad.

#### *Análisis estadístico:*

Los datos obtenidos durante el desarrollo de la sensibilización fueron analizados de acuerdo a lo descrito en el Método General.

**Tabla 6**

**Diseño para la evaluación de los efectos de la administración conjunta del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre el desarrollo de la sensibilización motora inducida por la administración de ANF**

Nombre de los grupos	Tratamiento repetido Días 3 al 7	Retos farmacológicos	
		Day 10	Day 11
SAL	Salina	Salina	ANF (1.0)
ANF	ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
BAC2+ANF	Baclofen (2.0) + ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
BAC3+ANF	Baclofen (3.0) + ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
BAC4+ ANF	Baclofen (4.0) + ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
CGP5+ANF	CGP7930 (5.0) + ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
CGP10+ANF	CGP7930 (10.0) + ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
CGP20+ANF	CGP7930 (20.0) + ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
CGP5+BAC+ANF	CGP7930 (5.0) + baclofen (2.0) + ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
CGP10+BAC+ANF	CGP7930 (10.0) + baclofen (2.0) + ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
CGP20+BAC+ANF	CGP7930 (20.0) + baclofen (2.0) + ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)

Cada dosis de los compuestos evaluados durante la administración representa un grupo de ratas ( $n=10$ ). Las dosis entre paréntesis se expresan en mg/kg.

## Resultados

### *Baclofen más ANF*

La evaluación de estos compuestos mostró que únicamente las dosis media (3.0 mg/kg) y alta (4.0 mg/kg) de baclofen bloquearon el desarrollo de sensibilización motora inducido por ANF, efecto que no puede ser atribuido a deterioro motor producido por el baclofen y perduró hasta los desafíos farmacológicos.

La Figura 16 muestra los resultados del desarrollo de sensibilización tras la administración repetida de baclofen y ANF. En ella puede observarse que aunque al inicio del experimento no había diferencias significativas,  $F(4,49)=0.781$ ,  $p>0.05$ , durante el desarrollo se encontraron diferencias entre los grupos,  $F(4,45)=558.094$ ,  $p<0.05$ , y diferencias intragrupo debidas al número de ensayo,  $F(4,180)=8.483$ ,  $p<0.05$ , y a la interacción entre el número de ensayo y el grupo,  $F(16,180)=3.999$ ,  $p<0.05$ . Las comparaciones posteriores indicaron que tanto el grupo ANF como el BAC2+ANF son diferentes del grupo SAL.

En lo que respecta a los retos farmacológicos (Figura 17), durante el reto con salina se encontró actividad significativamente más elevada en los grupos que recibieron ANF durante el desarrollo,  $F(4,49)=3.58$ ,  $p<0.05$ , mientras que en el reto con ANF se encontró que los grupos ANF y BAC2+ANF tuvieron significativamente mayor actividad que el grupo SAL,  $F(4,49)=2.921$ ,  $p<0.05$ , no así los grupos que recibieron dosis más elevadas de baclofen.

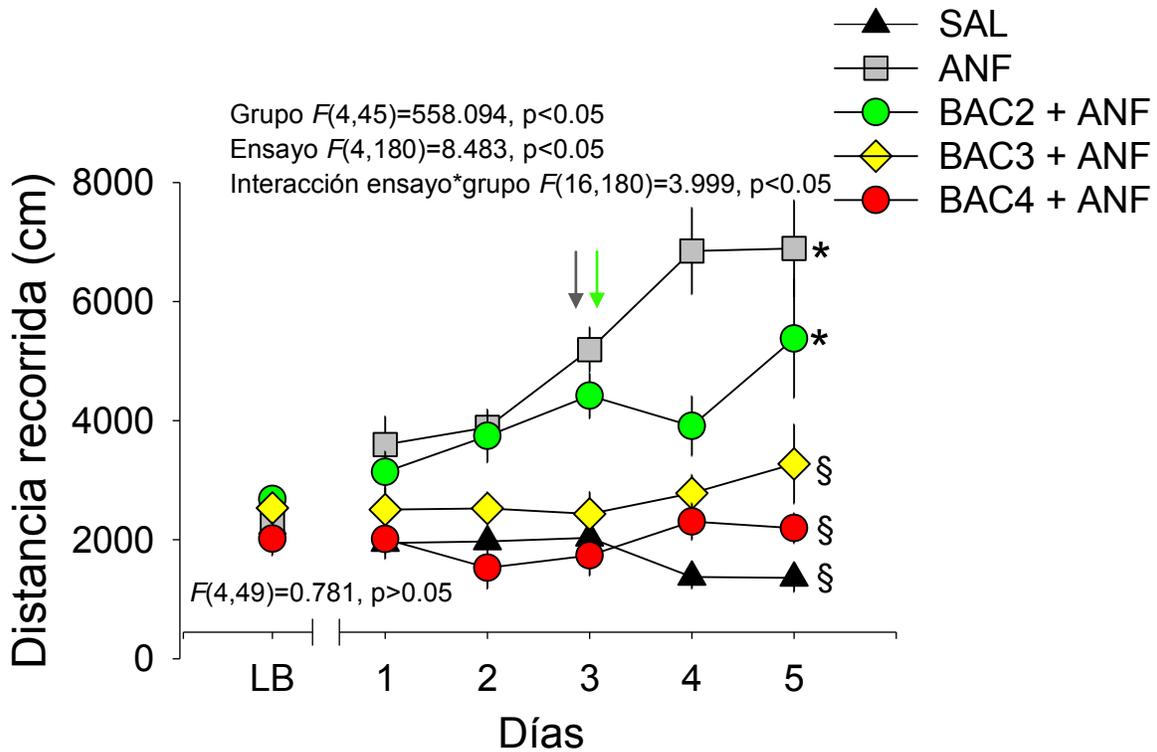


Figura 16. Se muestra la distancia recorrida en cm y los símbolos representan la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A cada grupo se le administraron diferentes dosis de baclofen más una dosis fija de ANF del Día 1 al Día 5. \*diferencias significativas respecto del grupo SAL, § diferencias significativas respecto del grupo ANF ( $p<0.05$ ). Las flechas indican el momento en que se encontraron diferencias significativas respecto del primer día.

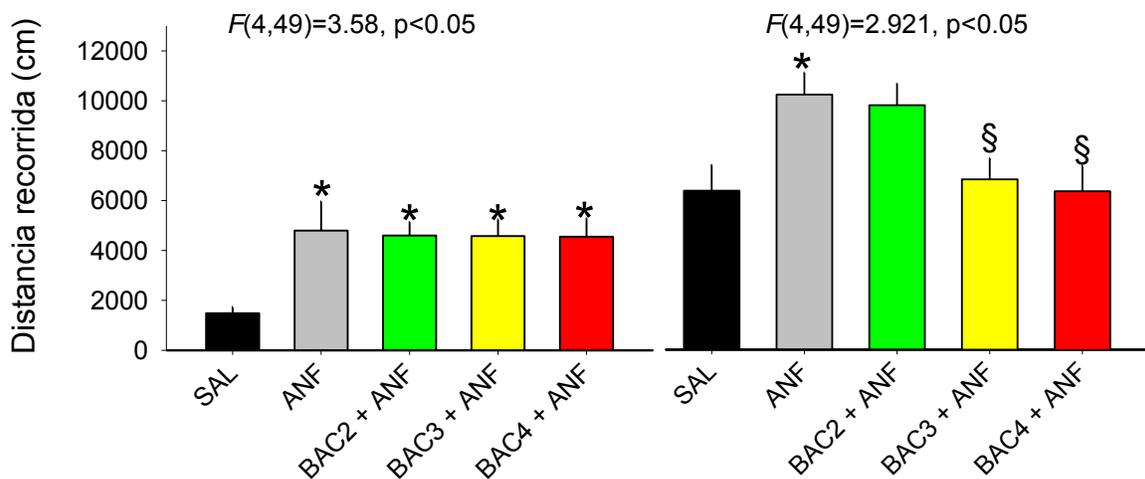


Figura 17. Se muestra la distancia recorrida en cm, cada barra representa la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A la izquierda el reto farmacológico con salina y a la derecha el reto farmacológico con amfetamina. \*diferencias significativas respecto del grupo SAL, § diferencias significativas respecto del grupo ANF ( $p<0.05$ ).

### *Modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 más ANF*

El CGP7930 no alteró el desarrollo de la sensibilización inducida por ANF (Figura 18).

En la gráfica de la Figura 18 se observa como los grupos no presentaron diferencias significativas durante la línea base,  $F(4,49)=0.264$ ,  $p>0.05$ , sin embargo, después de la administración de ANF en conjunto con las diferentes dosis de CGP7930 todos los grupos desarrollaron sensibilización motora. Las comparaciones posteriores señalaron que durante el desarrollo sólo había diferencias significativas entre grupos,  $F(4,45)=34.367$ ,  $p<0.05$ , e intragrupo debidas al número de ensayo,  $F(4,180)=6.721$ ,  $p<0.05$ , y a la interacción ensayo\*grupo,  $F(16,180)=1.306$ ,  $p<0.05$ , en el grupo SAL, el cual difirió de todos los demás. Este mismo patrón se observó en el reto farmacológico con ANF (gráfica derecha de la Figura 19), ya que aunque durante el reto con salina se encontró actividad más elevada en los grupos que recibieron ANF durante el desarrollo,  $F(4,49)=3.79$ ,  $p<0.05$ , (gráfica izquierda de la Figura 19), durante el reto ANF el grupo SAL tuvo significativamente menos actividad que el resto de los grupos,  $F(4,49)=5.313$ ,  $p<0.05$ .

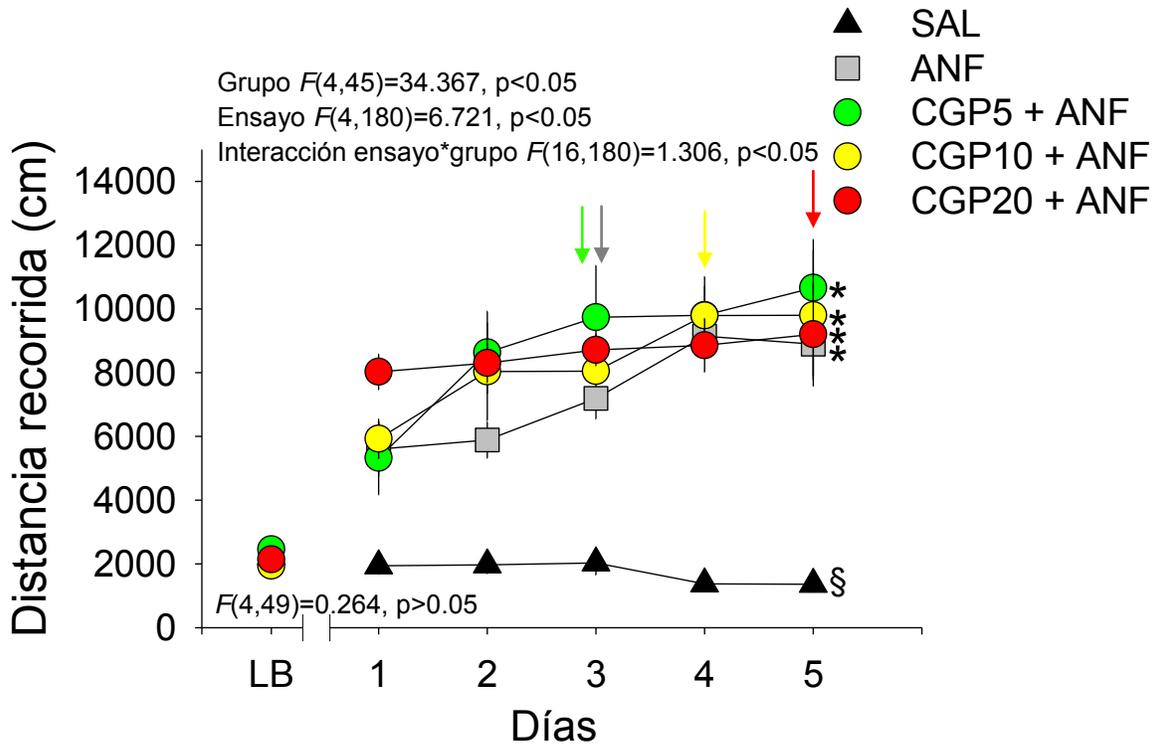


Figura 18. Se muestra la distancia recorrida en cm y los símbolos representan la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A cada grupo se le administraron diferentes dosis de CGP7930 más una dosis fija de ANF del Día 1 al Día 5. \*diferencias significativas respecto del grupo SAL, § diferencias significativas respecto del grupo ANF ( $p<0.05$ ). Las flechas indican el momento en que se encontraron diferencias significativas respecto del primer día.

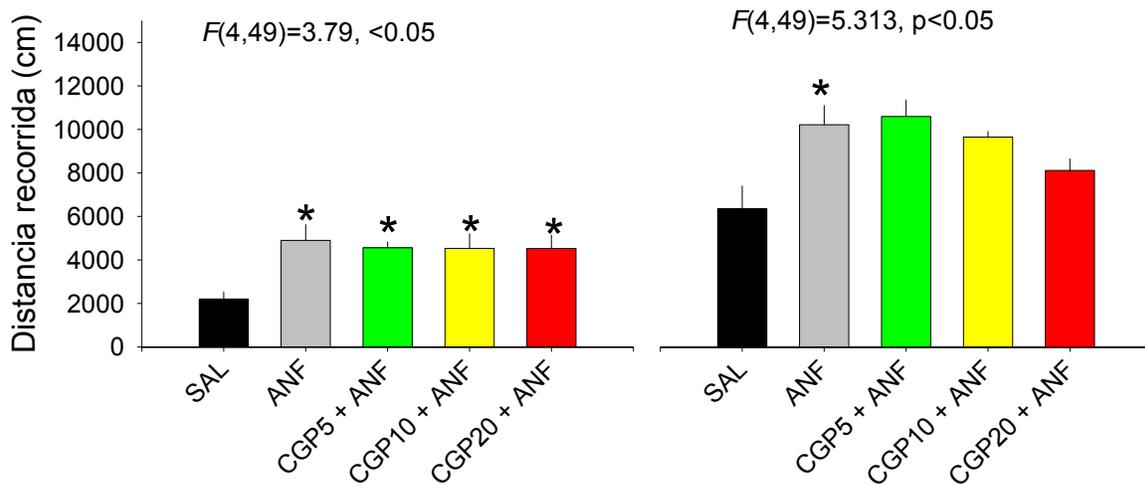


Figura 19. Se muestra la distancia recorrida en cm, cada barra representa la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A la izquierda el reto farmacológico con salina y a la derecha el reto farmacológico con amfetamina. \*diferencias significativas respecto del grupo SAL, § diferencias significativas respecto del grupo ANF ( $p<0.05$ ).

### *Modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 más baclofen más ANF*

El CGP7930 administrado en conjunto con la dosis más baja de baclofen y ANF, aumentó el efecto del baclofen de forma dependiente de la dosis. A pesar de que en la línea base no se observaron diferencias significativas,  $F(5,59)=1.30$ ,  $p>0.05$ , durante el desarrollo se observó que el grupo al que le fue administrado ANF presentó un aumento progresivo en la actividad motora mientras que el grupo SAL se mantuvo en un nivel basal (Figura 20). Como había sido mencionado con anterioridad la dosis de 2.0 mg/kg de baclofen no disminuyó el desarrollo de sensibilización sin embargo, su administración en conjunto con la dosis más alta de CGP7930 inhibió totalmente el desarrollo. Al analizar estadísticamente estos datos se encontraron diferencias significativas entre los grupos,  $F(5,54)=26.98$ ,  $p<0.05$ , y diferencias intragrupo debidas al número de ensayo,  $F(4,216)=11.00$ ,  $p<0.05$ , y a la interacción entre el número de ensayo y el grupo,  $F(20,216)=3.74$ ,  $p<0.05$ . Las comparaciones posteriores señalaron que el grupo SAL era significativamente diferente a todos los grupos, con excepción del grupo CGP20+BAC+ANF.

En lo que respecta a los retos farmacológicos (Figura 21), durante el reto salina (gráfica izquierda) se encontró actividad significativamente más elevada en los grupos que recibieron ANF durante la fase de desarrollo,  $F(5,59)=3.37$ ,  $p<0.05$ , sin embargo, durante el reto farmacológico con ANF (gráfica derecha), se encontró que el grupo SAL tuvo menor actividad que el resto de los grupos excepto por el grupo que recibió la dosis de 20.0 mg/kg de CGP7930, mientras que el grupo ANF fue significativamente distinto a dicho grupo,  $F(5,59)=4.33$ ,  $p<0.05$ .

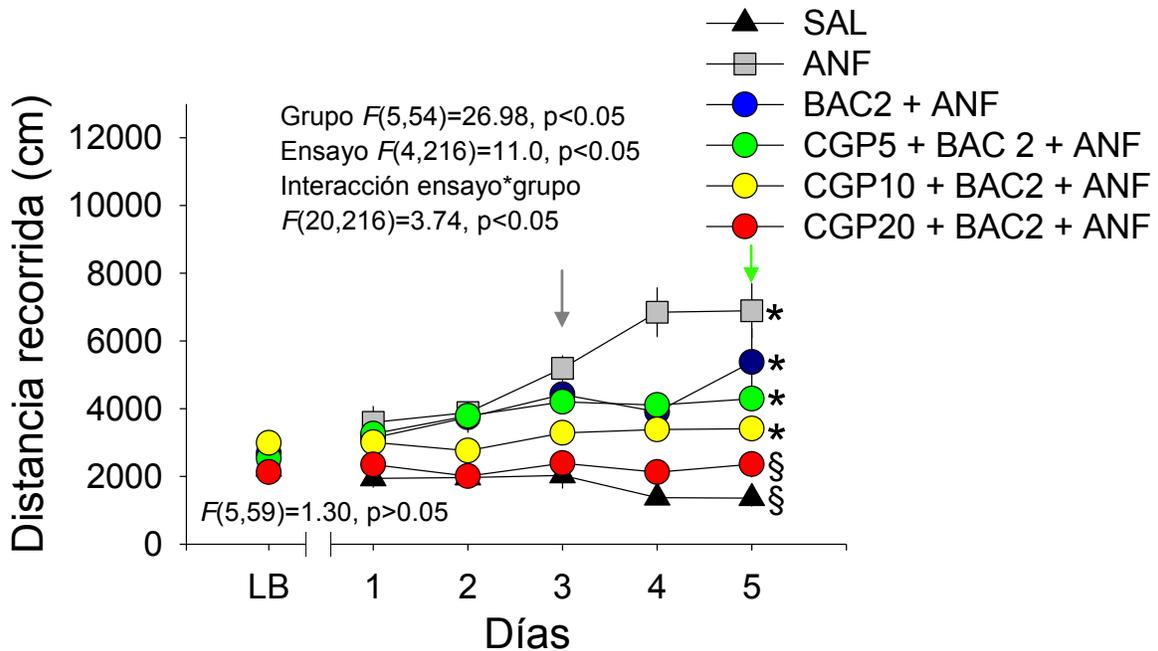


Figura 20. Se muestra la distancia recorrida en cm y los símbolos representan la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A cada grupo se le administraron diferentes dosis de CGP7930 más una dosis fija de baclofen y una dosis fija de ANF del Día 1 al Día 5. \*diferencias significativas respecto del grupo SAL, § diferencias significativas respecto del grupo ANF ( $p<0.05$ ). Las flechas indican el momento en que se encontraron diferencias significativas respecto del primer día.

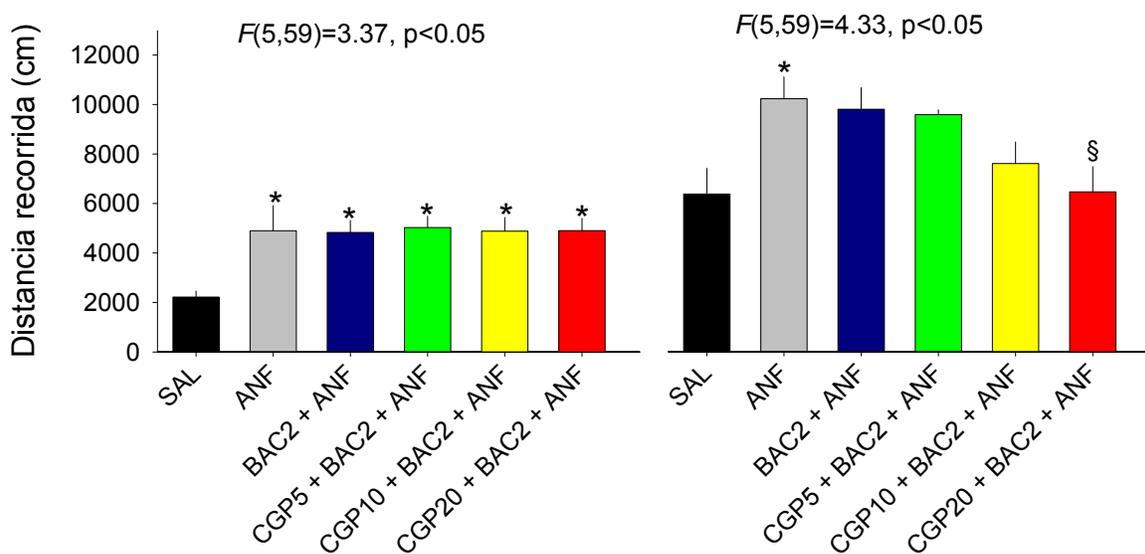


Figura 21. Se muestra la distancia recorrida en cm, cada barra representa la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A la izquierda el reto farmacológico con salina y a la derecha el reto farmacológico con anfetamina. \*diferencias significativas respecto del grupo SAL, § diferencias significativas respecto del grupo ANF ( $p<0.05$ ).

## Conclusiones

Este experimento fue diseñado para evaluar el efecto de la administración conjunta del modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 y el agonista GABA<sub>B</sub> baclofen sobre el desarrollo de sensibilización motora inducido por ANF. Primeramente, encontramos que la dosis de ANF empleada (1 mg/kg) es capaz de inducir sensibilización motora. Esto fue evidente tanto en el aumento progresivo de la distancia recorrida, como en el reto farmacológico ANF (ver grupo ANF, Figura 13). Esto es consistente con reportes previos sobre el efecto de la administración repetida de psicoestimulantes, los cuales pueden producir sensibilización motora después de la primera administración si la dosis es suficientemente elevada (Sanchis-Segura & Spanagel, 2006; Samaha et al., 2002).

### *Baclofen más ANF*

El tratamiento con baclofen con las dosis de 3.0 y 4.0 mg/kg fueron capaces de impedir el desarrollo de la sensibilización, mientras que la dosis de 2.0 mg/kg provocó una disminución no significativa de esta. Este efecto fue evidente tanto en el desarrollo de la sensibilización como en el reto farmacológico con ANF. Durante el desarrollo los grupos que recibieron la aplicación de baclofen en la dosis media y alta mantuvieron una actividad a nivel del grupo al que únicamente se le administró salina, mientras que el grupo que únicamente recibió ANF mostró un aumento progresivo de la actividad motora durante el desarrollo. La dosis más baja de baclofen únicamente mostró una disminución parcial del desarrollo de la sensibilización. Durante el reto con salina se encontraron algunas diferencias, sin embargo, estas diferencias fueron mínimas en comparación a las encontradas durante el reto ANF. Durante el reto con ANF se encontró que mientras que el grupo que desarrolló sensibilización con la administración repetida de ANF mostró una actividad significativamente más elevada que el grupo que recibió la administración de ANF por primera vez durante este reto, los grupos que

recibieron las dosis media y alta de baclofen durante el desarrollo presentaron una actividad significativamente menor al grupo ANF.

Estos resultados concuerdan con estudios en los que se reporta que el baclofen tiene la capacidad de atenuar las autoadministraciones iv de psicoestimulantes (Brebner et al., 2000a; Brebner et al., 2005; Campbell et al., 1999; Roberts & Andrews, 1997, Roberts et al., 1996; Shoaib et al., 1999) y otras drogas como la nicotina en roedores (Fattore et al., 2002)

#### *Modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 más ANF*

Ninguna de las dosis evaluadas (5.0, 10.0 y 20.0 mg/kg) tuvo efecto sobre la distancia recorrida. Observamos que el desarrollo de la sensibilización motora de los grupos que recibieron la administración del CGP7930 en combinación con ANF, fue estadísticamente igual al del grupo que únicamente recibió ANF.

En cuanto al reto farmacológico realizado con salina, se encontró que aunque la actividad motora de los grupos que recibieron ANF fue más elevada que en el grupo SAL, la actividad fue menor que durante las sesiones en las que si hubo la administración de ANF.

Finalmente, durante el reto farmacológico realizado con ANF y en acuerdo con los datos obtenidos durante la fase de desarrollo, se encontró que la actividad motora fue significativamente más elevada en los grupos que recibieron un tratamiento farmacológico con ANF que en el grupo SAL, el cual recibió la administración de ANF por primera vez durante este reto, y esto sucedió aún en los grupos en los que las ratas recibieron la administración del CGP7930 en conjunto con la ANF. Por tanto, nuestras observaciones indican que el CGP7930 no es capaz de prevenir el desarrollo de sensibilización motora, por lo menos cuando es administrado en aislado. Estos resultados coinciden con las descripciones realizadas sobre el CGP7930 y el GS39783, en los que se reporta

que estos moduladores alostéricos carecen de actividad intrínseca por sí mismos, sino que dependen de la presencia de los agonistas GABA<sub>B</sub> convencionales (Smith et al., 2004; Urwyler et al., 2001). Esto, aunado a datos anteriores sobre el efecto del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen sobre la sensibilización motora (reporte semestre 2010-2), deja abierta la posibilidad de que la combinación de la dosis más baja de baclofen (2.0 mg/kg), dosis que por sí misma no previno el desarrollo de sensibilización motora, en combinación con las diferentes dosis de CGP7930, puedan anular completamente el desarrollo de sensibilización motora producido por ANF.

*Modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 más baclofen más ANF*

En cuanto a las pruebas realizadas con el modulador alostérico positivo en combinación con baclofen, encontramos que el compuesto aumentó el efecto del baclofen de forma dependiente de la dosis. La dosis más alta de CGP7930 en combinación con baclofen impidió el desarrollo de la sensibilización.

Los resultados de este experimento coinciden con las descripciones realizadas sobre el CGP7930 y el GS39783, en los que se reporta que estos moduladores alostéricos carecen de actividad intrínseca por sí mismos y dependen de la presencia de los agonistas GABA<sub>B</sub> convencionales, por lo que en conjunto con el baclofen, es capaz de aumentar el efecto de este último (Smith et al., 2004; Urwyler et al., 2001).

Tomados en conjunto, los datos de este experimento muestran que el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> es capaz de aumentar el efecto de dosis bajas de baclofen, lo que suma evidencia al potencial del baclofen como tratamiento farmacológico en el caso de las adicciones.

## EXPERIMENTO 4

### ***Evaluación de los efectos de la administración conjunta de una dosis baja de baclofen y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre la expresión de sensibilización motora***

Este experimento fue diseñado para evaluar el efecto de la administración conjunta del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre la expresión de la sensibilización motora inducida por ANF.

#### *Sujetos:*

Ciento diez ratas con las especificaciones del Método General.

#### *Aparatos:*

Cajas de actividad motora con las características ya descritas en el Método General.

#### *Drogas:*

Todas las drogas fueron preparadas de acuerdo a las especificaciones del Método General (Tabla 3).

#### *Procedimiento:*

Los experimentos para evaluar el efecto de los compuestos sobre la expresión de la sensibilización siguieron el curso especificado en el Método General (Figura 8). La habituación, la línea base y el desarrollo se llevaron a cabo de acuerdo con el Método General. Durante el desarrollo todos los grupos recibieron una inyección ip de ANF (1.0 mg/kg). Los compuestos a evaluar fueron administrados el Día 11.

Expresión de la sensibilización. En el Día 10 las ratas recibieron la administración de una inyección ip de 1.0 ml/kg de salina y fueron introducidas en las cajas de actividad motora para contabilizar su actividad durante 60 min.

En el Día 11, las ratas recibieron la administración de una inyección ip de 1.0 ml/kg de ANF (1mg/kg) o de cada uno de los compuestos a evaluar más ANF (1mg/kg). Los compuestos fueron: diferentes dosis del agonista de los receptores GABA<sub>B</sub> baclofen (1.0, 3.0 ó 5.6 mg/kg), diferentes dosis del modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 (5.0, 10.0 ó 20.0 mg/kg) o una dosis fija del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen (3.0 mg/kg) más diferentes dosis del modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 (5.0, 10.0 ó 20.0 mg/kg) (Tabla 7). Posteriormente fueron introducidas en las cajas de actividad motora durante 60 min para obtener el registro de la actividad motora.

*Análisis estadístico:*

Los datos de este experimento fueron analizados de acuerdo con el Método General.

**Tabla 7**

**Diseño para la evaluación de los efectos del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen y el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 sobre la expresión de la sensibilización motora inducida por la administración de ANF.**

Nombre de los grupos	Tratamiento repetido Días 3 al 7	Retos farmacológicos	
		Day 10	Day 11
SAL	Salina	Salina	ANF (1.0)
ANF	ANF (1.0)	Salina	ANF (1.0)
BAC2+ANF	ANF (1.0)	Salina	Baclofen (2.0) + ANF (1.0)
BAC3+ANF	ANF (1.0)	Salina	Baclofen (3.0) + ANF (1.0)
BAC4+ ANF	ANF (1.0)	Salina	Baclofen (4.0) + ANF (1.0)
CGP5+ANF	ANF (1.0)	Salina	CGP7930 (5.0) + ANF (1.0)
CGP10+ANF	ANF (1.0)	Salina	CGP7930 (10.0) + ANF (1.0)
CGP20+ANF	ANF (1.0)	Salina	CGP7930 (20.0) + ANF (1.0)
CGP5+BAC+ANF	ANF (1.0)	Salina	CGP7930 (5.0) + baclofen (2.0) + ANF (1.0)
CGP10+BAC+ANF	ANF (1.0)	Salina	CGP7930 (10.0) + baclofen (2.0) + ANF (1.0)
CGP20+BAC+ANF	ANF (1.0)	Salina	CGP7930 (20.0) + baclofen (2.0) + ANF (1.0)

Cada dosis de los compuestos evaluados durante la administración representa un grupo de ratas ( $n=10$ ). Las dosis entre paréntesis se expresan en mg/kg.

## Resultados

### *Baclofen más ANF*

Las dosis de 3.0 y 4.0 mg/kg de baclofen redujeron la expresión de la sensibilización locomotora en el día del reto farmacológico. La dosis más baja (2.0 mg/kg) no tuvo dicho efecto. En la Figura 22 se observan los resultados obtenidos durante esta prueba. El recuadro superior muestra como la sensibilización se desarrolló en todos los grupos a los que se les administró ANF. La distancia recorrida durante la línea base fue igual para todos los sujetos,  $F(4,49)=1.370$ ,  $p>0.05$ . Sin embargo, durante el desarrollo de la sensibilización se encontraron diferencias significativas entre grupos,  $F(4,45)=16.350$ ,  $p<0.05$ . Todas las diferencias fueron ubicadas en el grupo SAL, el cual es distinto al resto de los grupos. Se encontró también que existen diferencias debidas al número de ensayo,  $F(4,180)=8.547$ ,  $p<0.05$ , y a la interacción entre número de ensayo y grupo,  $F(16,180)=1.801$ ,  $p<0.05$ .

Durante el desafío farmacológico con salina, en el lado izquierdo de la Figura 24, se encontraron diferencias entre el grupo SAL y los grupos que recibieron la administración de ANF,  $F(4,49)=5.16$ ,  $p<0.05$ . Durante el desafío farmacológico con ANF, en el lado derecho de la Figura 22 se encontraron diferencias en el grupo SAL, que resultó significativamente diferente a los grupos ANF y BAC2+ANF, y los grupos BAC3+ANF y BAC4+ANF que fueron diferentes al grupo ANF,  $F(4,49)=5.055$ ,  $p<0.05$ .

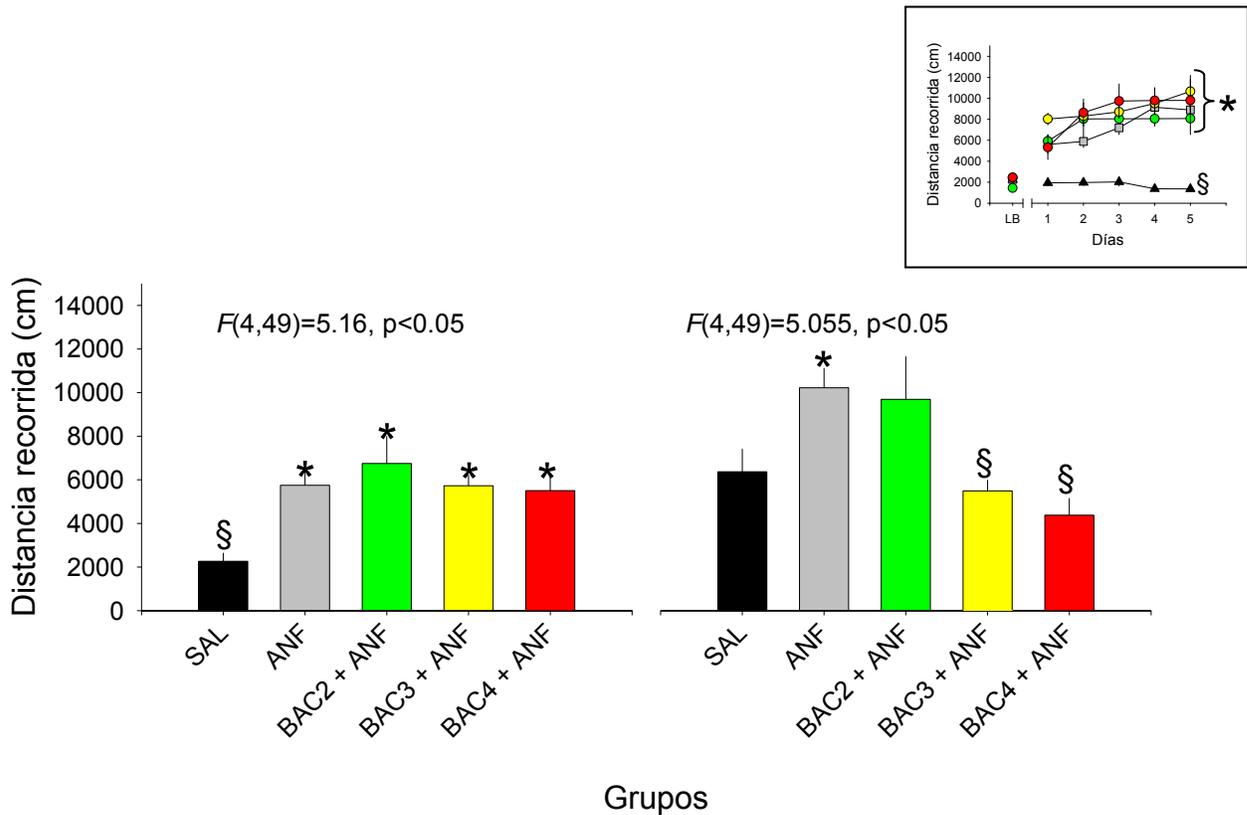


Figura 22. Se muestra la distancia recorrida en cm, cada barra representa la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A la izquierda el reto farmacológico con salina y a la derecha el reto farmacológico con diferentes dosis de baclofen más amfetamina. En el recuadro superior, se muestra el desarrollo de sensibilización con la administración repetida de una dosis fija de amfetamina a todos los grupos, con excepción del grupo salina. \*diferencias significativas respecto del grupo SAL, § diferencias significativas respecto del grupo ANF ( $p < 0.05$ ).

### Modulador alostérico positivo de los receptores $GABA_B$ CGP7930 más ANF

El modulador alostérico positivo de los receptores  $GABA_B$  CGP7930 no disminuyó la expresión de la sensibilización locomotora previamente inducida con ANF. En el recuadro de la Figura 23 se observa como la sensibilización se desarrolló normalmente en todos los grupos que recibieron tratamiento con ANF, el análisis estadístico mostró que en esta fase existen diferencias significativas entre los grupos,  $F(4,45)=27.74$ ,  $p < 0.05$ , e intragrupo debidas al número de ensayo,  $F(4,180)=9.27$ ,  $p < 0.05$ , y a la interacción entre el número de ensayo y el grupo,  $F(16,180)=1.32$ ,  $p > 0.05$ . Las comparaciones posteriores señalaron que el grupo

SAL es distinto a los grupos que fueron tratados con ANF. Esta misma diferencia se mantuvo en el reto con ANF, en el que el grupo SAL presentó una actividad más baja al recibir la primera administración de ANF que los grupos que fueron sensibilizados, aún cuando se les administró la dosis más alta de CGP7930,  $F(4,49)=4.49, p<0.05$ . En el reto SAL encontraron diferencias significativas entre los grupos que recibieron la administración de ANF durante el desarrollo y el grupo SAL,  $F(4,49)=3.84, p<0.05$ .

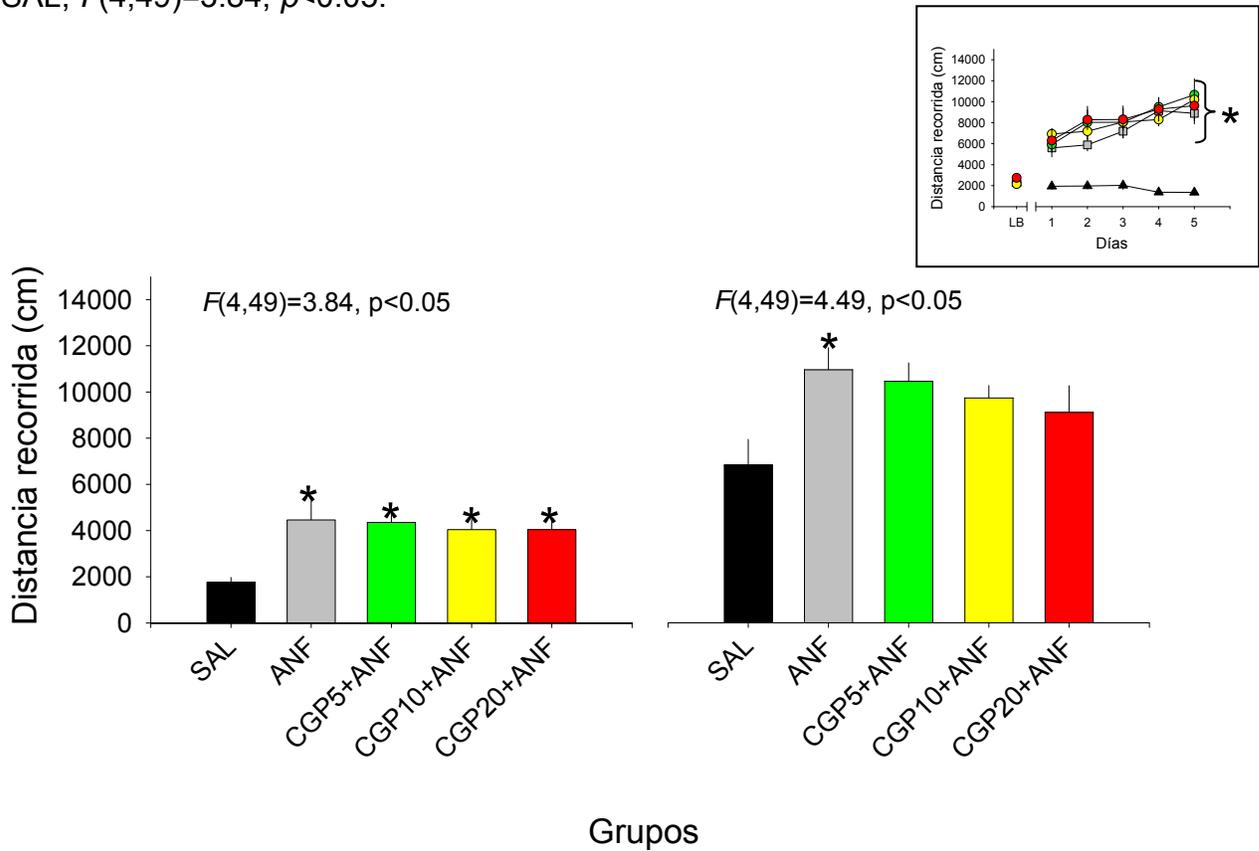


Figura 23. Se muestra la distancia recorrida en cm, cada barra representa la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A la izquierda el reto farmacológico con salina y a la derecha el reto farmacológico con diferentes dosis de CGP7930 más anfetamina. En el recuadro superior, se muestra el desarrollo de sensibilización con la administración repetida de una dosis fija de anfetamina a todos los grupos, con excepción del grupo salina. \*diferencias significativas respecto del grupo SAL, § diferencias significativas respecto del grupo ANF ( $p<0.05$ ).

*Modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 más baclofen más ANF*

En cuanto a la administración conjunta de baclofen y CGP7930 durante el reto farmacológico ANF, se encontró que el CGP7930 aumentó el efecto de la dosis más baja de baclofen de forma dependiente de la dosis. La dosis más alta de CGP7930 más la dosis más baja de baclofen previno completamente la expresión de la sensibilización previamente inducida con ANF. En la Figura 24 se observan estos resultados. En el recuadro se observa que la sensibilización se desarrolló en todos los grupos que fueron tratados con ANF ya que aunque la distancia recorrida durante la línea base fue igual para todos los sujetos durante la línea base,  $F(5,59)=1.48$ ,  $p>0.05$ , durante el desarrollo de la sensibilización se encontraron diferencias significativas entre grupos,  $F(5,54)=18.563$ ,  $p<0.05$ , y diferencias intragrupo debidas al número de ensayo,  $F(4,216)=10.241$ ,  $p<0.05$ , aunque la interacción entre número de ensayo y grupo,  $F(20,216)=1.220$ ,  $p>0.05$ , no fue significativa. Todas las diferencias fueron ubicadas en el grupo SAL, el cual es distinto a los grupos que fueron tratados con ANF.

La parte inferior de la Figura 24 contiene los resultados de la distancia recorrida durante los desafíos farmacológicos. Durante el desafío farmacológico con salina, en el lado izquierdo, se encontraron diferencias significativas entre el grupo SAL y los grupos que recibieron ANF durante el desarrollo de la sensibilización,  $F(5,59)=5.54$ ,  $p<0.05$ . Durante el desafío farmacológico con ANF, en el lado inferior derecho de la Figura 26, se encontraron diferencias entre el grupo ANF y los grupos SAL y CGP20+BAC+ANF,  $F(5,59)=2.217$ ,  $p<0.05$ .

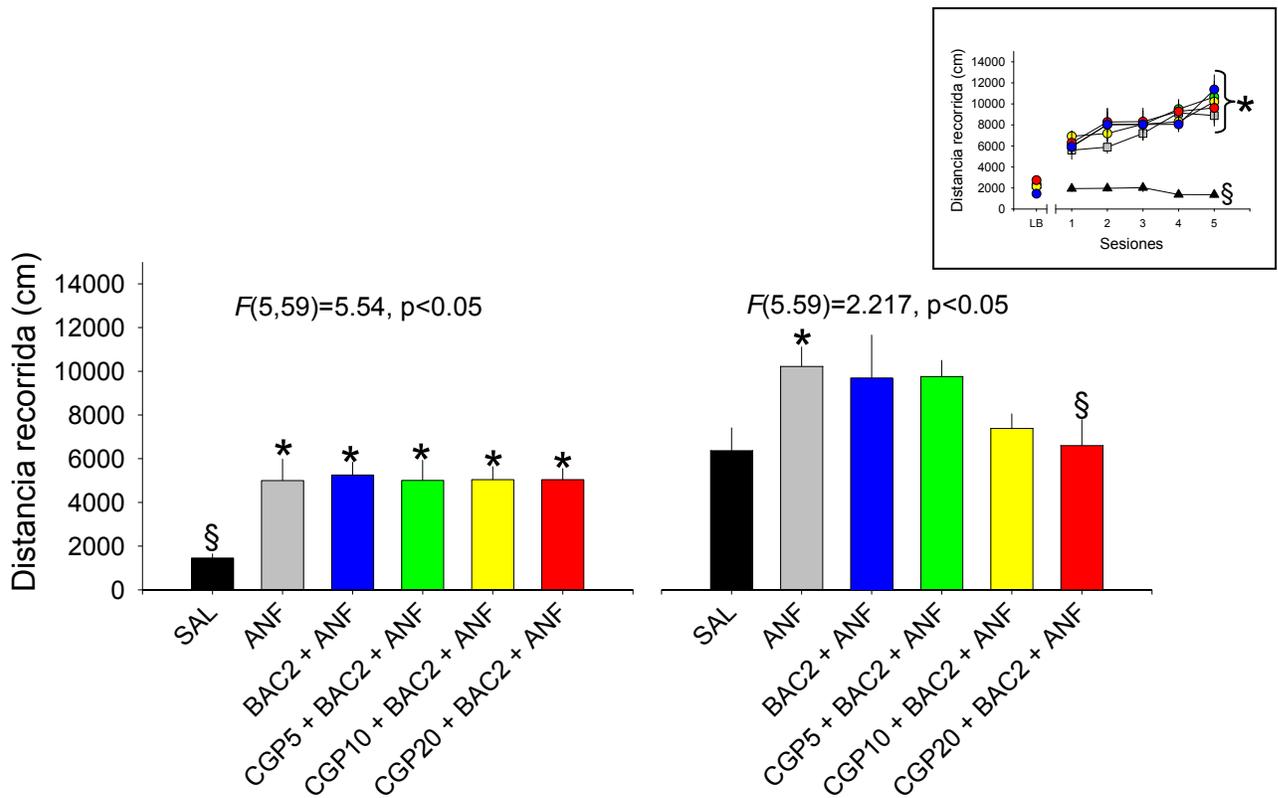


Figura 24. Se muestra la distancia recorrida en cm, cada barra representa la media  $\pm$  error estándar de 10 ratas por grupo. A la izquierda el reto farmacológico con salina y a la derecha el reto farmacológico con diferentes dosis de CGP7930 más una dosis fija de baclofen y una dosis fija de amfetamina. En el recuadro superior, se muestra el desarrollo de sensibilización con la administración repetida de una dosis fija de amfetamina a todos los grupos, con excepción del grupo salina. \*diferencias significativas respecto del grupo SAL, § diferencias significativas respecto del grupo ANF ( $p<0.05$ ).

## Conclusiones

Todos los grupos que fueron tratados con ANF desarrollaron sensibilización motora acorde con lo reportado en la literatura. El patrón de desarrollo de la sensibilización fue igual que los patrones reportados previamente sobre el efecto de la administración repetida de psicoestimulantes (Bartoletti et al., 2007; Caster et al., 2007), ya que se encontró un aumento progresivo de la actividad locomotora (recuadros de las Figuras 23, 24, 24 y 26).

### *Baclofen más ANF*

Este experimento fue diseñado para evaluar el efecto de la administración del agonista GABA<sub>B</sub> baclofen sobre la expresión de la sensibilización motora inducida por ANF. Durante el reto farmacológico con salina, la actividad motora fue menor a la observada durante las administraciones de ANF. Los grupos que recibieron la administración de ANF en el tratamiento repetido tuvieron una actividad mayor que el grupo que nunca había recibido ANF. Es importante recordar que hasta el momento del reto con salina todos los grupos, a excepción del grupo SAL, habían recibido exactamente el mismo tratamiento. Por otro lado, durante el reto farmacológico con ANF, en el que se administraron las dosis de baclofen a evaluar se encontraron diferencias consistentes con lo encontrado al administrar las mismas dosis del compuesto durante la fase de desarrollo.

En primer lugar, se encontró que la actividad motora del grupo ANF, que recibió el tratamiento repetido con ANF, fue significativamente más elevada que la observada en el grupo SAL, grupo que recibió la administración de ANF por primera vez en este reto. Este patrón, es consistente con los reportes sobre el efecto de la administración repetida de psicoestimulantes sobre la actividad motora.

En segundo lugar, la administración de la dosis media y alta de baclofen (3.0 y 4.0 mg/kg respectivamente) previno que la sensibilización motora se expresara durante esta última prueba. Es decir, en los grupos en los que se administraron estas dosis, la actividad motora posterior a la sexta administración de ANF no difirió significativamente del grupo que recibió ANF por primera vez. Sin embargo, en el grupo que recibió la dosis más baja de baclofen (2.0 mg/kg) se encontró un aumento en la actividad motora igual al grupo que no recibió ningún tipo de tratamiento. Estos resultados indican que el baclofen en dosis elevadas (más de 3.0 mg/kg) es capaz de prevenir la expresión de sensibilización motora. Estos resultados concuerdan con trabajos anteriores en los que se reportó que el baclofen es capaz de revertir la expresión de la sensibilización motora producida por la administración repetida de ANF (Bartoletti, Gubellini, Ricci & Gaiardi, 2004).

#### *Modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 más ANF*

Al igual que en la evaluación del efecto del CGP7930 en el desarrollo de sensibilización motora inducida por ANF, ninguna de las dosis evaluadas (5.0, 10.0 y 20.0 mg/kg) tuvo efecto sobre la expresión de la sensibilización locomotora. Se observó el desarrollo de sensibilización locomotora en todos los grupos que recibieron la administración de ANF, y de igual forma se expresó en todos los grupos durante el reto farmacológico. Como se mencionó con anterioridad, estos resultados apoyan reportes anteriores que señalan que los moduladores alostéricos carecen de actividad intrínseca (Smith et al., 2004; Urwyler et al., 2001).

#### *Modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930 más baclofen más ANF*

Con este experimento se encontró que aunque el CGP7930 *per se* no es capaz de prevenir la expresión de la sensibilización motora previamente inducida

con la administración continua de ANF, es capaz de aumentar el efecto de la dosis más baja de baclofen.

Durante el reto farmacológico con salina, la actividad motora fue menor a la observada durante las administraciones de ANF. Por otro lado, durante el reto farmacológico con ANF, se encontró que la actividad motora del grupo ANF, que recibió el tratamiento repetido con ANF, fue significativamente más elevada que la observada en el grupo SAL, grupo que recibió la administración de ANF por primera vez en este reto, lo que es consistente con los reportes sobre el efecto de la administración repetida de psicoestimulantes sobre la actividad motora. Además, la administración de baclofen en conjunto con CGP7930 mostró que éste último puede aumentar el efecto del baclofen de forma dependiente de la dosis de CGP7930. La administración de CGP7930 en su dosis más alta (2.0 mg/kg) en conjunto con una dosis baja de baclofen produjo que el movimiento fuera significativamente más bajo que el de las ratas que no recibieron ningún tratamiento o las ratas que únicamente recibieron una dosis baja de baclofen (2.0 mg/kg). Estos datos apoyan evidencia anterior acerca del papel de los receptores GABA<sub>B</sub> en el fenómeno de la adicción, incluyendo las características de la activación del sitio alostérico.

## DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la administración conjunta del agonista de los receptores GABA<sub>B</sub> baclofen y CGP7930, un modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub>, sobre la sensibilización locomotora inducida por ANF. Se encontró que la ANF incrementó la actividad locomotora y que el tratamiento con baclofen produjo una prevención de la sensibilización de forma dependiente de la dosis, tanto del desarrollo como de la expresión de sensibilización locomotora inducida por ANF, mientras que el CGP7930 no tuvo efecto ni en el desarrollo ni en la expresión de la actividad motora inducida por ANF. También se encontró que la administración del modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7030 incrementó los efectos de la dosis baja de baclofen sobre la sensibilización locomotora inducida con ANF en ambas fases. Adicionalmente, se detectó un incremento en la actividad locomotora durante el reto SAL (día 10), que es interpretado como locomoción condicionada (Vezina & Leyton, 2009) y pudo enmascarar los efectos principales de las pruebas realizadas el día 11. Sin embargo, a pesar de que esta posibilidad no puede ser descartada completamente, se encontró que el baclofen y/o CGP7930 redujeron la actividad locomotora inducida por ANF de forma dependiente de la dosis, y no la incrementaron, tanto en el desarrollo como en la expresión de sensibilización locomotora inducida por ANF.

Los resultados encontrados son consistentes con estudios previos en que se ha demostrado que el agonista de los receptores GABA<sub>B</sub> baclofen atenúa la sensibilización locomotora inducida por ANF. Por ejemplo, se ha reportado previamente que el baclofen previene tanto el desarrollo (Bartoletti, Gubellini, Ricci & Gaiardi, 2005) como la expresión (Bartoletti, et al., 2004) de sensibilización locomotora inducida por ANF. El baclofen también atenúa la sensibilización de los efectos locomotores estimulantes producidos por cocaína (Frankowska, Nowak & Filip, 2009), morfina (Bartoletti et al., 2007; Fu et al., 2012) y alcohol (Broadbent & Harless, 1999).

Además, se ha encontrado que el baclofen atenúa algunas conductas relacionadas con la adicción a algunas drogas. Por ejemplo, se ha reportado que el pretratamiento con baclofen reduce las autoadministraciones de cocaína en ratas bajo programas de razón fija (Brebner et al., 2000a), programas de razón progresiva (Arnold & Roberts, 1997; Roberts & Brebner, 2000), programas de reforzamiento de ensayos discretos (Brebner et al., 1999), y programas de segundo orden (Di Ciano & Everitt, 2003). Así mismo, se ha mostrado que el baclofen disminuye las autoadministraciones de ANF bajo programas de razón fija o progresiva (Brebner et al., 2005) y atenúa la actividad locomotora condicionada en respuesta a señales asociadas con la administración de cocaína (Hotsenpiller & Wolf, 2003), nicotina (Paterson, Froestl & Markou, 2004) y heroína (Di Ciano & Everitt, 2003), y en un estudio previo realizado por nuestro equipo de trabajo, encontramos que el baclofen reduce las propiedades discriminativas de la ANF (Miranda et al., 2009).

Los mecanismos que subyacen a los efectos observados del baclofen sobre la sensibilización locomotora inducida por ANF podría involucrar la modulación GABAérgica de la transmisión DAérgica en el ATV. Existen diversas evidencias que dan soporte a esta hipótesis. Primero, el sistema mesolímbico de la DA, en particular la proyección del ATV al NAcc, es un importante centro en cuanto a la producción de actividad locomotora y efectos reforzantes y recompensantes de psicoestimulantes como la cocaína y ANF (Di Chiara, 1995; Kalivas & Nakamura, 1999; Koob, 1992), además de que este sistema juega un papel importante tanto en el desarrollo como en la expresión de sensibilización locomotora inducida por ANF. Segundo, el ATV contiene principalmente neuronas DAérgicas, que liberan DA en el NAcc y corteza prefrontal, y en segundo lugar interneuronas GABAérgicas, las cuales inhiben la tasa de disparo de las neuronas DAérgicas en el ATV. Adicionalmente, existen vías GABAérgicas provenientes del NAcc que proyectan hacia las neuronas DAérgicas en el ATV (Kalivas, 1993; Kita & Kitai, 1998). Este circuito representa un núcleo importante para la producción de ciertos

comportamientos relacionados con los efectos de los psicoestimulantes (Koob, 1992). Tercero, la evidencia anatómica sugiere que existen receptores GABA<sub>B</sub> ubicados en el ATV (Bowert, Hudson & Price, 1987; Johnson & North, 1992; Kalivas, 1993; Nagai, McGeer & McGeer, 1983). Cuarto, algunos estudios conductuales y bioquímicos han reportado que las infusiones de baclofen en el ATV disminuyen la liberación de DA en el NAcc (Westerink, Kwint & De Vries, 1996; Yoshida et al., 1994), lo que sugiere que la activación de los receptores GABA<sub>B</sub> ubicados en el cuerpo celular de las neuronas DAérgicas mesolímbicas se encuentra involucrada en los efectos bioquímicos del baclofen. Además, las microinyecciones de baclofen en el ATV reducen las autoadministraciones de cocaína bajo programas de razón fija (Shoaib et al., 1998) y programas de razón progresiva (Brebner, Phelan & Roberts, 2000b), reducen las autoadministraciones de heroína (Xi & Stein, 1999) y la actividad locomotora inducida por ANF (Kalivas, Duffy & Eberhardt, 1990). En conjunto, estos datos apoyan la hipótesis de que la activación de los receptores GABA<sub>B</sub> en los cuerpos celulares de las neuronas DAérgicas del ATV, juega un papel importante en los efectos de disminución del baclofen sobre el desarrollo y la expresión de sensibilización locomotora inducida por ANF.

En los presentes experimentos, también se observó que el modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub> CGP7930, incrementó los efectos de la dosis baja de baclofen sobre la sensibilización locomotora inducida por ANF. Es importante señalar que ninguna dosis de GP7930 alteró la sensibilización locomotora inducida por ANF. Estos resultados son consistentes con al menos los resultados de un estudio previo, en el que se reportó que la combinación de una dosis baja de baclofen con una dosis de CGP7930 redujo la autoadministración de alcohol (Liang et al., 2006). También ha sido reportado que las inyecciones de CGP7930 producen una reducción en el consumo de alcohol en ratas con consumo preferente de alcohol (Liang et al., 2006; Orrù et al., 2005), en las autoadministraciones de cocaína en ratas bajo diversos programas de reforzamiento (Filip et al., 2007; Smith et al., 2004), de conductas compulsivas por

cocaína (Filip & Frankowska, 2007), de las estimulación locomotora inducida por nicotina en ratones (Lobina et al., 2011), y de autoadministraciones de nicotina (Paterson et al., 2008). Adicionalmente, el tratamiento con CGP7930 produce aproximadamente el 41% de respuestas apropiadas al baclofen y aumenta la señal discriminativa del baclofen en pichones entrenados a discriminar baclofen de salina (Koek, France, Cheng & Rice, 2012).

Estos resultados, en conjunto con los resultados presentados aquí, aportan evidencia conductual acerca de que el baclofen y compuestos relacionados, como el CGP7930, podrían representar un tratamiento farmacológico potencial para la adicción a las drogas. En el caso de los moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub>, como el CGP7930, no poseen actividad intrínseca por sí solos pero pueden modular la actividad del GABA o de agonistas GABAérgicos, como el baclofen, sin producir los efectos colaterales adversos asociados con la administración de baclofen. En contraste con los resultados citados previamente, estudios recientes han mostrado que la administración de GS39783, otro modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub>, aún siendo administrado solo, atenuó la actividad locomotora inducida por un único tratamiento de cocaína y redujo ligeramente la sensibilización locomotora inducida por la administración repetida (Lhuillier et al., 2007). También ha sido reportado que el GS39783 redujo la actividad locomotora producida por la administración aguda de etanol pero sin producir efectos sobre la sensibilización locomotora, mientras que cuando el fue administrado en conjunto con etanol, incrementó la sensibilización locomotora (Lhuillier et al., 2007).

En este sentido, es importante señalar que el receptor GABA<sub>B</sub> es un heterodímero acoplado a proteínas G compuesto por una subunidad GABA<sub>B1</sub> y una subunidad GABA<sub>B2</sub>, que tienen diferentes funciones (Bowery, 2006). La subunidad GABA<sub>B1</sub> es esencial para la unión de los ligandos, mientras que la subunidad GABA<sub>B2</sub> aporta el mecanismo de acoplamiento a la proteína G e incorpora el sitio de modulación alostérica (Pin et al., 2004). Se ha sugerido que el

mecanismo de acoplamiento a la proteína G de la subunidad GABA<sub>B2</sub> involucra la interacción con el dominio extracelular de la subunidad GABA<sub>B1</sub>, y como resultado de esta interacción, se incrementa la afinidad y acoplamiento de los agonistas (Binet et al., 2004). De acuerdo con esta sugerencia, ha sido reportado que el CGP7930 es capaz de facilitar los efectos inhibitorios del baclofen sobre la tasa de disparo espontánea de las neuronas DAérgicas. El CGP7930 desplaza la curva dosis respuesta del baclofen a la izquierda, aunque no tiene efecto si es administrado solo (Chen et al., 1999). De acuerdo con los autores, la razón de que el CGP7930 solo no provoque ningún cambio en la tasa de disparo espontánea de las neuronas DAérgicas del VTA parece ser debido a que la cantidad de GABA liberado sobre las neuronas DAérgicas del ATV es demasiado baja para activar a los receptores GABA<sub>B</sub>. Los moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub>, como el CGP7930, carecen de actividad intrínseca, y su acción es dependiente de la presencia de GABA endógeno u otro agonista GABA<sub>B</sub> (Urwyler et al., 2001; Urwyler et al., 2003). Es bien sabido que las neuronas DAérgicas son inhibidas tónicamente por interneuronas GABAérgicas en el ATV (Johnson & North, 1992) y que las neuronas DAérgicas del ATV también reciben inputs de neuronas GABAérgicas que se originan en el NAcc (Sugita, Johnson & North, 1992). Este circuito aporta los niveles endógenos de GABA requeridos para activar a los receptores GABA<sub>B</sub>. El control inhibitorio de GABA sobre las neuronas DAérgicas del ATV puede ser incrementado en presencia de un modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub>, como el CGP7930. Por tanto, las observaciones previas podrían explicar los resultados del presente estudio y de algunos estudios en los que el CGP7930 fue administrado solo, si se considera que el CGP7930 actúa sinérgicamente con el GABA o con un agonista GABA<sub>B</sub>, incluso considerando que el CGP7930 no tiene actividad intrínseca por sí mismo.

En conclusión, los presentes resultados demuestran que agonista GABA<sub>B</sub> baclofen produce una prevención dependiente de la dosis tanto del desarrollo como de la expresión de sensibilización locomotora inducida por ANF. Además, el CGP7930, un modulador alostérico positivo de los receptores GABA<sub>B</sub>, incrementa

los efectos de una dosis baja de baclofen sobre la sensibilización locomotora inducida por ANF en ambas fases: desarrollo y expresión. Estos resultados proporcionan evidencia de que los ligandos del receptor GABA<sub>B</sub> pueden modular conductas inducidas por psicoestimulantes y que los moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA<sub>B</sub> pueden ser compuestos con potencial si son combinados con el uso de agonistas GABA<sub>B</sub> convencionales como el baclofen.

## REFERENCIAS

- Adell, A. & Artigas, F. (2004). The somatodendritic release of dopamine in the ventral tegmental area and its regulation by afferent transmitter systems. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 28, 415 - 431.
- Agmo, A. & Soria, P. (1997). GABAergic drugs and sexual motivation, receptivity and exploratory behaviors in the female rat. *Psychopharmacology*, 129, 372 - 381.
- Amano, M. & Kubo, T. (1993). Involvement of both GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>B</sub> receptors in tonic inhibitory control of blood pressure at the rostral ventrolateral medulla of the rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 48, 146 - 153.
- Arnold, J. M. & Roberts, D. C. S. (1997). A critique of fixed and progressive ratio schedules used to examine the neural substrates of drug reinforcement. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 57, 441– 447.
- Awapara, J., Landua, A. J., Fuerst, R. & Seale, B. (1950). Free  $\gamma$ -aminobutyric acid in brain. *The Journal of Biological Chemistry*, 187, 35 - 39.
- Bahena-Trujillo, R., Flores, G. & Arias-Montaño, J. A. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Revista Biomédica*, 11, 30 - 60.
- Balerio, G. N. & Rubio, M. C. (2002). Baclofen analgesia: involvement of the GABAergic system. *Pharmacological Research: the Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 46, 281 - 286.

- Barber, R. P., Vaughn, J. E., Saito, K., McLaughlin, B. J. & Roberts, E. (1978). GABAergic terminals are presynaptic to primary afferent terminals; in the substantia gelatinosa of the rat spinal cord. *Brain Research*, 141, 35 - 55.
- Bartoletti, M., Gubellini, C., Ricci, F. & Gaiardi, M. (2004). The GABA<sub>B</sub> agonist baclofen blocks the expression of sensitization to the stimulant effect of amphetamine. *Behavioural Pharmacology*, 15, 397 – 401.
- Bartoletti, M., Gubellini, C., Ricci, F. & Gaiardi, M. (2005). Baclofen blocks the development of sensitization to the locomotor stimulant effect of amphetamine. *Behavioural Pharmacology*, 16, 553–558.
- Bartoletti, M., Ricci, F. & Gaiardi, M. (2007). A GABA<sub>B</sub> agonist reverses the behavioral sensitization to morphine in rats. *Psychopharmacology*, 192, 79 - 85.
- Best, P. J. (2006). *Olds, James. Introductory article.* USA: Encyclopedia of Cognitive Science.
- Bettler, B., Kaupmann, K., Mosbacher, J. & Gassmann, M. (2004). Molecular Structure and Physiological Functions of GABA<sub>B</sub> Receptors. *Physiological Reviews*, 84, 835 - 867.
- Binet, V., Brajon, C., Le Corre, L., Acher, F., Pin, J. P. & Prezeau, L. (2004). The heptahelical domain of GABAB2 is activated directly by CGP7930, a positive allosteric modulator of the GABAB receptor. *The Journal of Biological Chemistry*, 279, 29085-29091.
- Björklund, A. & Dunnett, S. B. (2007a). Fifty years of dopamine research. *Trends in Neurosciences*, 30, 185 - 187.
- Björklund, A. & Dunnett, S.B. (2007b). Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends in Neurosciences*, 30, 194 - 202.

- Bowery, N. G. (2006). GABAB receptor: A site of therapeutic benefit. *Current Opinion in Pharmacology*, 6, 37-43.
- Bowery, N. G., Doble, A., Hill, D. R., Hudson, A. L., Shaw, J. S. & Turnbull, M. J. (1979). Baclofen: a selective agonist for a novel type of GABA receptor. *British Journal of Pharmacology*, 67, 444 - 445.
- Bowery, N. G., Hudson, A. L. & Price, G. W. (1987). GABAA and GABAB receptor site distribution in the rat central nervous system. *Neuroscience*, 20, 365–383.
- Bowery, N. G. & Smart, T. G. (2006). GABA and glycine as neurotransmitters: a brief history. *British Journal of Pharmacology*, 147, 109 - 119.
- Brebner, K., Ahn, S. & Phillips, A. G. (2005). Attenuation of d-amphetamine self-administration by baclofen in the rat: behavioral and neurochemical correlates. *Psychopharmacology*, 177, 409 - 417.
- Brebner, K., Childress, A. R. & Roberts, D. C. S. (2002a). A potential role for GABA<sub>B</sub> agonists in the treatment of psychostimulant addiction. *Alcohol Alcohol*, 37, 478 - 484.
- Brebner, K., Froestl, W., Andrews, M., Phelan, R. & Roberts, D. C. S. (1999). The GABA(B) agonist CGP 44532 decreases cocaine self-administration in rats: demonstration using a progressive ratio and a discrete trials procedure. *Neuropharmacology*, 38, 1797–1804.
- Brebner, K., Phelan, R. & Roberts, D. C. S. (2000a). Effect of baclofen on cocaine self-administration in rats reinforced under fixed-ratio 1 and progressive-ratio schedules. *Psychopharmacology*, 148, 314 - 321.
- Brebner, K., Phelan, R. & Roberts, D. C. S. (2000b). Intra-VTA baclofen attenuates cocaine-self-administration on a progressive ratio schedule of reinforcement. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 66, 857-862.

- Brebner, K., Wolfgang, F. & Roberts, D. C. S. (2002b). The GABA<sub>B</sub> antagonist CGP56433A attenuates the effect of baclofen on cocaine but not heroin self-administration in the rat. *Psychopharmacology*, 160, 49 - 55.
- Broadbent, J. & Harless, W. E. (1999). Differential effects of GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>B</sub> agonists on sensitization to the locomotor stimulant effects of ethanol in DBA/2 J mice. *Psychopharmacology*, 141, 197 - 205.
- Browman, K. E., Badiani, A. & Robinson, T. E. (1998a). Modulatory Effect of Environmental Stimuli on the Susceptibility to Amphetamine Sensitization: A Dose-Effect Study in Rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 287, 1007 - 1014.
- Browman, K. E., Badiani, A. & Robinson, T. E. (1998b). The influence of environment on the induction of sensitization to the psychomotor activating effects of intravenous cocaine in rats is dose-dependent. *Psychopharmacology*, 137, 90 - 98.
- Caine, S. B., Stevens, N. S., Mello, N. K. & Bergman, J. (1999). Effects of Dopamine D<sub>1</sub>-like and D<sub>2</sub>-like Agonists in Rats that Self-Administer Cocaine. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 291, 353 - 360.
- Caine, S. B., Stevens, N. S., Mello, N. K., Patel, S., Bristow, L., Kulagowski, J., Vallone, D., Saiardi, A. & Borrelli, E. (2002). Role of Dopamine D<sub>2</sub>-like Receptors in Cocaine Self-Administration: Studies with D2 Receptor Mutant Mice and Novel D2 Receptor Antagonist. *The Journal of Neuroscience*, 22, 2977 - 2988.
- Campbell, U. C., Lac, S. T., & Carroll, M. E. (1999). Effects of baclofen on maintenance and reinstatement of intravenous cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology*, 143, 209 - 214.

- Carlson, N. R. (1993). *Fisiología de la conducta*. España: Ariel Neurociencia.
- Caster, J. M., Walker, Q. D. & Kuhn, C. M. (2007). A single high dose of cocaine induces differential sensitization to specific behaviors across adolescence. *Psychopharmacology*, 193, 247 - 260.
- Cervo, L., Carnovali, F., Stark, J. A. & Mennini T. (2003). Cocaine-seeking behaviour in response to drug-associated stimuli in rats: are D<sub>3</sub> dopamine receptors involved?. *Neuropsychopharmacology*, 28, 1150 – 1159.
- Chebib, M. & Johnston, G. A. R. J. (1999). The “ABC” of GABA receptors: A brief review. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 26, 937 - 940.
- Chen, Y., Phillips, K., Minton, G. & Sher, E. (2005). GABA<sub>B</sub> receptor modulators potentiate baclofen-induced depression of dopamine neuron activity in the rat ventral tegmental area. *British Journal of Pharmacology*, 144, 926 - 932.
- Consejo Nacional Contra las Adicciones (2003). *Observatorio mexicano en tabaco alcohol y otras drogas*. Secretaria de Salud: México.
- Consejo Nacional Contra las adicciones (2008). *Encuesta Nacional de Adicciones 2008*. Secretaría de Salud: México
- Cooper, J. R., Bloom, F. E. & Roth, R. H. (2003). *The Biochemical basis of neuropharmacology*. EUA: Oxford.
- Cousins, M. S., Roberts, D. C. S. & Wit, H. (2002). GABA<sub>B</sub> receptor agonists for the treatment of drug addiction: a review of recent findings. *Drug Alcohol Depend*, 65, 209 - 220.

- Cross, J. A., Cheetham, S. C., Crompton, M. R., Katona, C. L. E. & Horton, R. W. (1988). Brain GABA<sub>B</sub> Binding Sites in Depressed Suicide Victims. *Psychiatry Research*, 26, 119 - 129.
- Cryan, J. F. & Kaupmann, K. (2005). Don't worry "B" happy!: a role for GABA<sub>B</sub> receptors in anxiety and depression. *Journal of Pharmacological Sciences*, 26, 36 - 43.
- Cryan, J. F., Kelly, P. H., Chaperon, F., Gentsch, C., Mombereau, C., Lingenhoehl, K., Froestl, W., Bettler, B., Kaupmann, K. & Spooren, W. P. J. M. (2004). Behavioral Characterization of the Novel GABA<sub>B</sub> Receptor-Positive Modulator GS39783 (N,N -Dicyclopentyl-2-methylsulfanyl-5-nitro-pyrimidine-4,6-diamine): Anxiolytic-Like Activity without Side Effects Associated with baclofen or Benzodiazepines. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 310, 952 - 963.
- DeRuiter, J. (2004). Principles of Drug Action 2. *Fall*, 1-12.
- Di Chiara, G. (1995). The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. *Drug and Alcohol Dependence*, 38, 95–137.
- Di Ciano, P. & Everitt, B. J. (2003). The GABA(B) receptor agonist baclofen attenuates cocaine- and heroin-seeking behavior by rats. *Neuropsychopharmacology*, 28, 510–518.
- Dubrovina, N. I. & Zinov'ev, D. R. (2008). Contribution of GABA Receptors to Extinction of Memory Traces in Normal Conditions and in a Depression-Like State. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 38, 775 - 779.
- Enna, S. J. & McCarson, K. E. (2006). The role of GABA in the mediation and perception of pain. *Advances in Pharmacology*, 54, 1 - 27.

- Everitt, B. J. & Wolf, M. E. (2002). Psychomotor Stimulant Addiction: A Neural Systems Perspective. *The Journal of Neuroscience*, 22, 3312 – 3320.
- Fattore L., Cossu G., Martellotta M.C., y Fratta W. (2002). Baclofen antagonizes intravenous self-administration of nicotine in mice and rats. *Alcohol and Alcoholism*. 37(5), 495-498.
- Feldman, R. S., Meyer, J. S. & Quenzer, L. F. (1996). *Principles of Neuropsychopharmacology*, Massachussets. EUA: Sinauer.
- Filip, M. & Frankowska, M. (2007). Effects of GABA<sub>B</sub> receptor agents on cocaine priming, discrete contextual cue and food induced relapses. *European Journal of Pharmacology*, 571, 166-173.
- Filip, M. & Frankowska, M. (2008). GABA<sub>B</sub> receptors in drug addiction. *Pharmacological Reports : PR*, 60, 755 - 770.
- Filip, M., Frankowska, M. & Przegalinski, E. (2007). Effects of GABA<sub>B</sub> receptor antagonist, agonist and allosteric positive modulator on the cocaine-induced self-administration and drug discrimination. *European Journal of Pharmacology*, 574, 148 - 157.
- Florey, E. (1961). A new test preparation for bio-assay of Factor I and gamma-aminobutyric acid. *The Journal of Physiology*, 156, 1 - 7.
- Franken, I. H., Booji, J. & Van den Brink, W. (2005). The role of dopamine in human addiction: From reward to motivated attention. *European Journal of Pharmacology*, 526, 199 - 206.
- Frankowska, M., Nowak, E. & Filip, M. Effects of GABA<sub>B</sub> receptor agonists on cocaine hyperlocomotor and sensitizing effects in rats. *Pharmacological Reports*, 61, 1042-1049.

- Fu, Z., Yang, H., Xiao, Y., Zhao, G. & Huang, H. (2012). The gamma-aminobutyric acid type B (GABAB) receptor agonist baclofen inhibits morphine sensitization by decreasing the dopamine level in rat nucleus accumbens *Behavioral and Brain Functions*, 8, 20.
- Fuxe, K. (1965). Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. IV. Distribution of monoamine nerve terminals in the central nervous system. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum*, 247, 37 - 84.
- Grech, D. M., Spealman, R. D. & Bergman, J. (1996). Self-administration of D<sub>1</sub> receptor agonists by squirrel monkeys. *Psychopharmacology*, 125, 97 - 104.
- Henry, D. J. & White, F. J. (1995). The Persistence of Behavioral Sensitization to Cocaine Parallels Enhanced Inhibition of Nucleus Accumbens Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 15, 6287 - 6299.
- Hill, D. R. & Bowery, N. G. (1981). 3H-baclofen and 3H-GABA bind to bicuculline-insensitive GABA<sub>B</sub> sites in rat brain. *Nature*, 290, 149 - 152.
- Hotsenpiller, G. & Wolf, M. E. (2003). (2003). Baclofen attenuates conditioned locomotion to cues associated with cocaine administration and stabilizes extracellular glutamate levels in the rat nucleus accumbens. *Neuroscience*, 118,123–134.
- Itzhak, Y. & Martin, J. L. (1999). Effects of cocaine, nicotine, dizocipiline and alcohol on mice locomotor activity: cocaine-alcohol cross-sensitization involves upregulation of striatal dopamine transporter binding sites. *Brain Research*, 818, 204 - 211.
- Iversen, S. & Iversen, L. (2006). Dopamine: 50 years in perspective. *Trends in Neurosciences*, 30, 188 - 193.

- Jayaram, P. & Steketee, J. D. (2004). Effects of repeated cocaine on medial prefrontal cortical GABAB receptor modulation of neurotransmission in the mesocorticolimbic dopamine system. *Journal of Neurochemistry*, *90*, 839 - 847.
- Jodogne, C., Marinelli, M., Le Moal, M. & Piazza, P. V. (1994). Animals predisposed to develop amphetamine self-administration show higher susceptibility to develop contextual conditioning of both amphetamine-induced hyperlocomotion and sensitization. *Brain Research*, *657*, 236 - 244.
- Johnson, S. W. & North, R. A. (1992). Two types of neurone in the rat ventral tegmental area and their synaptic inputs. *Journal of Physiology (London)*, *450*, 455-468.
- Jorgensen, E. M. (2005). *GABA. WormBook*. The C. elegans Research Community: WormBook.
- Kalivas, P. W. (1993). Neurotransmitter regulation of dopamine neurons in the ventral tegmental area. *Brain Research Reviews*, *18*, 75-113.
- Kalivas, P. W. (2007). Cocaine and amphetamine-like psychostimulants: neurocircuitry and glutamate neuroplasticity. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *9*, 389 – 397.
- Kalivas, P. W., Duffy, P. & Eberhardt, H. (1990). Modulation of A10 neurons by gamma-aminobutyric acid agonists. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *253*, 858-866.
- Kalivas, P. W. & Nakamura, M. (1999). Neural systems for behavioral activation and reward. *Current Opinion in Neurobiology*, *9*, 223–227.

- Kaupmann, K., Schuler, V., Mosbacher, J., Bischoff, S., Bittiger, H., Heid, J., Froestl, W., Leonhard, S., Pfaff, T., Karschin, A. & Bettler, A. B. (1998). Human g-aminobutyric acid type B receptors are differentially expressed and regulate inwardly rectifying K1 channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 14991 - 14996.
- Kita, H. & Kitai, S. T. (1988). Glutamate decarboxylase immunoreactive neurons in the rat neostriatum: Their morphological types and population. *Brain Research*, 447, 346-352.
- Knapp, D. J., Overstreet, D. H. & Breese, G. R. (2007). Baclofen Blocks Expression and Sensitization of Anxiety-Like Behavior in an Animal Model of Repeated Stress and Ethanol Withdrawal. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 31, 582 - 595.
- Koek, W., France, C. P., Cheng, K. & Rice, K. C. (2012). Effects of the GABAB receptor-positive modulators CGP7930 and rac-BHFF in baclofen- and  $\gamma$ -hydroxybutyrate-discriminating pigeons. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 341, 369-376.
- Koob, G. F. (1992). Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13,177–184.
- Koob, G. F. & Le Moal, M. L. N. (2006). *What is addiction ?*. *Neurobiology of Addiction*. USA: Elsevier.
- Lee, B., Yang, C. H., Hahm, D. H., Lee, H. J., Han, S. M., Kim, K. S. & Shim, I. (2008). Inhibitory Effects of Ginseng Total Saponins on Behavioral Sensitization and Dopamine Release Induced by Cocaine. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 31, 436 - 441.

- Lhuillier, L., Monbureau, C., Cryan, J. & Kaupmann, K. (2007). GABA<sub>B</sub> Receptor Positive Modulation Decreases Selective Molecular and Behavioral Effects of Cocaine. *Neuropsychopharmacology*, 32, 388 - 398.
- Liang, J. H., Chen, F., Krstew, E., Cowen, M. S., Carroll, F. Y., Crawford, D., Beart, P. M. & Lawrence, A. J. (2006). The GABA<sub>B</sub> receptor allosteric modulator CGP7930, like baclofen, reduces operant self-administration of ethanol in alcohol-preferring rats. *Neuropharmacology*, 50, 632 - 639.
- Lloyd, K. G., Zivkovic, B., Sanger, D., Depoortere, H. & Bartholini, G. Fengabine, a Novel Antidepressant GABAergic Agent. I. Activity in Models for Antidepressant Drugs and Psychopharmacological Profile. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 241, 245 - 250.
- Lobina, C., Carai, M. A., Froestl, W., Mugnaini, C., Pasquini, S., Corelli, F., Gessa, G. L. & Colombo, G. (2011). Activation of the GABA<sub>B</sub> receptor prevents nicotine-induced locomotor stimulation in mice. *Frontiers in Psychiatry*, 2, 1-5.
- Milner, P. (1989). The Discovery of Self-Stimulation and Other Stories. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 13, 61 - 67.
- Miranda, F., Jiménez, J. C., Cedillo, L. N., Sandoval-Sánchez, A., Millán-Mejía, P. & Velázquez-Martínez, D. (2009). The GABA<sub>B</sub> antagonist 2-hydroxysaclofen reverses the effect of baclofen on the discriminative signal of amphetamine in the conditioned taste aversion procedure. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 93, 25 - 30.
- Nagai, T., McGeer, P. L. & McGeer, E. G. (1983). Distribution of GABA-T-intensive neurons in the rat forebrain and midbrain. *Journal of Comparative Neurology*, 218, 220-238.

- Nagatsu, T. (1981). Bioprotein cofactor and regulation of monoamine synthesizing mono-oxygenase. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2, 276 - 279.
- Nowak, G., Partyka, A., Palucha, A., Szewczyk, B., Wieronska, J. M., Dybala, M., Metz, M., Librowski, T., Froestl, W., Papp, M. & Pilc, A. (2006). Antidepressant-like activity of CGP36742 and CGP51176, selective GABA<sub>B</sub> receptor antagonist, in rodents. *British Journal of Pharmacology*, 149, 581 - 590.
- Office on Drugs and Crime (2007). *World Drug Report*. United Nations.
- Olds, J. (1956). Pleasure center in the brain. *Scientific American*, 195, 105 - 116.
- 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, 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.
- Ong, J. & Kerr, D. (2005). Clinical Potential of GABA<sub>B</sub> Receptor Modulators. *CNS Drug Reviews*, 11, 317 - 34.
- Orrù, A., Lai, P., Lobina, C., Maccioni, P., Piras, P., Scanu, L., Froestl, W., Gessa, G. L., Carai, M. A. M. & Colombo, G. (2005). Reducing effect of the positive allosteric modulators of the GABA<sub>B</sub> receptor, CGP7930 and GS39783, on alcohol intake in alcohol-preferring rats. *European Journal of Pharmacology*, 525, 105 - 111.
- Partyka, A., Klodzinska, A., Szewczyk, B., Wieronska, J. M., Chojnacka-Wójcik, E., Librowski, T., Filipek, B., Nowak, G. & Pilc, A. (2007). Effects of GABA<sub>B</sub> receptor ligands in rodent test of anxiety-like behavior. *Pharmacological Reports: PR*, 59, 757 - 762.

- Paterson, N. E., Froestl, W. & Markou, A. (2004). The GABAB receptor agonists baclofen and CGP44532 decreased nicotine self-administration in the rat. *Psychopharmacology*, 172, 179–186.
- Paterson, N. E., Vlachou, S., Guery, S., Kaupmann, K., Froestl, W. & Markou, A. (2008). Positive modulation of GABAB receptors decreased nicotine self-administration and counteracted nicotine-induced enhancement of brain reward function in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 326, 306–314.
- Paulson, P. E. & Robinson, T. E. (1991). Sensitization to systemic amphetamine produces an enhanced locomotor response to a subsequent intra-accumbens amphetamine challenge in rats. *Psychopharmacology*, 103, 480 - 492.
- Phillips, A. G. & Di Cano, P. (1996). Behavioral sensitization is induced by intravenous self-administration of cocaine by rats. *Psychopharmacology*, 124, 279 - 281.
- Phillips, T. J., Roberts, A. J. & Lessov, C. N. (1997). Behavioral Sensitization to Ethanol: Genetics and the Effects of Stress. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 57, 487 - 493.
- Pin, J. P., Kniazeff, J., Binet, V., Liu, J., Maurel, D., Galvez, T., Duthey, B., Havlickova, M., Blahos, J., Prézeau, L. et al. (2004). Activation mechanisms of the heterodimeric GABAB receptor. *Biochemical Pharmacology*, 68, 1565–1572.
- Pitsikas, N., Rigamonti, A. E., Cella, S. G. & Muller, E. E. (2003). The GABA<sub>B</sub> receptor and recognition memory: possible modulation of its behavioral effects by the nitrenergic system. *Neuroscience*, 118, 1121 - 1127.

- Quéva, C., Bremmer-Danielsen, M., Edlund, A., Ekstrand, A. J., Elq, S., Erickson, S., Johansson, T., Lehmann, A. & Mattsson, J. P. (2003). Effects of GABA agonists on body temperature regulation in GABA (B (1))-/- mice. *British Journal of Pharmacology*, 140, 315 - 322.
- Roberts, D. C. S. (2005). Preclinical evidence for GABA<sub>B</sub> agonists as a pharmacotherapy for cocaine addiction. *Physiology & Behavior*, 86, 18 - 20.
- Roberts, D. C. S. & Andrews, M. M. (1997). Baclofen suppression of cocaine self-administration: demonstration using a discrete trials procedure. *Psychopharmacology*, 131, 271 – 277.
- Roberts, D. C. S., Andrews, M. M. & Vickers, G. J. (1996). Baclofen attenuates the reinforcing effects of cocaine in rats. *Neuropsychopharmacology*, 15, 417 – 423.
- Roberts, D. C. S. & Brebner, K. (2000). GABA modulation of cocaine self-administration. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 909, 145–158.
- Roberts, E. & Frankel, S. (1950).  $\gamma$ -aminobutyric acid in brain: its formation from glutamic acid. *The Journal of Biological Chemistry*, 187, 55 - 63.
- Robinson, T. E. & Berridge, K. C. (2000). The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. *Addiction*, 95, 91 - 119.
- Rowlett, J. K., Mattingly, B. A. & Bardo, M. T. (1997). Locomotor activity and dopamine synthesis following 1 and 15 days of withdrawal from repeated apomorphine treatments. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 57, 13 - 18.
- Rudissaar, R., Pruus, K., Skrebuhhova-Malmros, T., Allikmets, L & Matto, V. (2000). Involvement of GABAergic neurotransmission in the neurobiology of

the apomorphine-induced aggressive behavior paradigm, a model of psychotic behavior in rats. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 22, 637 - 640.

Samaha, A. N., Li, Y. & Robinson, T. E. (2002). The Rate of Intravenous Cocaine Administration Determines Susceptibility to Sensitization. *The Journal of Neuroscience*, 22, 3244 - 3250.

Sanchis-Segura, C. & Spanagel, R. (2006). Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview. *Addiction Biology*, 11, 2 - 38.

Scholl, J. L., Feng, N., Watt, M. J., Renner, K. J. & Forster, G. L. (2009). Individual differences in amphetamine sensitization, behavior and central monoamines. *Physiology & Behavior*, 96, 493 - 504.

Self, D. W. & Stein, L. (1992). The D 1 agonists SKF 82958 and SKF 77434 are self-administered by rats. *Brain Research*, 582, 349 - 352.

Seymour, C. M. & Wagner, J. J. (2008). Simultaneous expression of cocaine-induced behavioral sensitization and conditions place preference in individuals rats. *Brain Research*, 1213, 57 - 68.

Shoaib, M., Swanner, L. S., Beyer, C. E., Goldberg, S. R. & Schindler, C. W. (1998). The GABA<sub>B</sub> agonist baclofen modifies cocaine self-administration in rats. *Behavioral Pharmacology*, 9, 195 – 206.

Slattery, D. S., Markou, A., Froestl, W. & Cryan, J. F. (2005). The GABA<sub>B</sub> Receptor-Positive Modulator GS39783 and the GABA<sub>B</sub> Receptor Agonist baclofen Attenuate the Reward-Facilitating Effects of Cocaine: Intracranial Self-Stimulation Studies in the Rat. *Neuropsychopharmacology*, 30, 2065 - 2072.

- Sleipness, E. P., Sorg, B. A. & Jansen, H. T. (2005). Time of day alters long-term sensitization to cocaine in rats. *Brain Research*, 1065, 132 - 137.
- Smith, M. A., Yancey, D. L., Morgan, D., Liu, Y., Froestl, W. & Roberts, D. C. S. (2004). Effects of positive allosteric modulators of the GABA<sub>B</sub> receptor on cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology*, 173, 105 - 111.
- Sperk, G., Furtinger, S., Schwarzer, C. & Pirker, S. (2004). GABA and its receptors in epilepsy. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 584, 92 - 103.
- Stratford, T. R. & Kelley, A. E. (1997). GABA in the Nucleus Accumbens Shell Participates in the Central Regulation of Feeding Behavior. *The Journal of Neuroscience*, 17, 4434 - 4440.
- Sugita, S., Johnson, S. W. & North, R. A. (1992). Synaptic inputs to GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>B</sub> receptors originate from discrete afferent neurons. *Neuroscience Letters*, 134, 207-211.
- Tella, S. R., Schindler, C. W. & Goldberg, S. R. (1991). Rapid sensitization to the cardiovascular effects of cocaine in rats. *European Journal of Pharmacology*, 194, 119 - 122.
- Thompson, R. F. (1999). James Olds 1922-1976. Biographical Memoirs. *The national academy press Washington, D. C.*, 7.
- Urwyler, S., Mosbacher, J., Lingenhoehl, K., Heid, J., Hofstetter, K., Froestl, W., Bettler, B. & Kaupmann, K. (2001). Positive Allosteric Modulation of Native and Recombinant  $\gamma$ -Aminobutyric Acid<sub>B</sub> Receptors by 2,6-Di-tert-butyl-4-(3-hydroxy-2,2-dimethyl-propyl)-phenol (CGP7930) and its Aldehyde Analog CGP13501. *Molecular Pharmacology*, 60, 963 - 971.
- Urwyler, S., Pozza, M. F., Lingenhoehl, K., Mosbacher, J., Lampert, C., Froestl, W., Koller, M. & Kaupmann, K. (2003) N,N-Dicyclopentyl-2-methylsulfanyl-5-

- nitro-pyrimidine-4,6-diamine (GS39783) and structurally related compounds: novel allosteric enhancers of gamma-aminobutyric acidB receptor function. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 307, 322-330.
- Vezina, P. & Leyton, M. (2009). Conditioned cues and the expression of stimulant sensitization in animals and humans. *Neuropharmacology*, 56, 160-168.
- Weed, M. R., Vanover, K. E. & Woolverton, W. L. (1993). Reinforcing effects of the D 1 dopamine agonist SKF 81297 in rhesus monkeys. *Psychopharmacology*, 113, 51 – 52.
- Weed, M. R. & Woolverton, M. L. (1995) The reinforcing effects of D 1 receptor agonists in rhesus monkeys. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 275, 1367 – 1374.
- Westerink, B. H., Kwint, H. F. & De Vries, 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*, 16, 2605–2611.
- Wise, R. A. & Bozarth, M. A. (1987). A Psychomotor Stimulant Theory of Addiction. *Psychological Review*, 94, 469 - 492.
- Witkin, J. M. (1994). Pharmacotherapy of cocaine abuse: preclinical development. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 18, 121 - 142.
- Woolverton, W. L., Goldberg, L. I. & Ginos, J. Z. (1984). Intravenous selfadministration of dopamine receptor agonists by rhesus monkeys. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 229, 678 – 683.
- Xi, Z. X. & Stein, E. A. (1999). Baclofen inhibits heroin self-administration behavior and mesolimbic dopamine release. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 290, 1369–1374.

- Yeh, S. Y. & Haertzen, C. A. (1991). Cocaine-induced locomotor activity in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 39, 723 - 727.
- Yoshida, M., Yokoo, H., Tanaka, T., Emoto, H. & Tanaka, M. (1994). Opposite changes in the mesolimbic dopamine metabolism in the nerve terminal and cell body sites induced by locally infused baclofen in the rat. *Brain Research*, 636, 111-114.
- Zahniser, N. R. & Sorkin, A. Rapid regulation of the dopamine transporter: role in stimulant addiction?. *Neuropharmacology*, 47, 80 - 91.
- Zhou, W., Mailloux, A. & McGinty, J. F. (2005). Intracerebral baclofen administration decreases amphetamine-induced behavior and neuropeptide gene expression in the striatum. *Neuropsychopharmacology*, 30, 880 – 890.