



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
FACULTAD DE QUÍMICA.

**“UN CEREBRO ADICTO EN ABSTINENCIA: CARACTERIZACIÓN DE LA
ACTIVACIÓN NEURONAL EN ÁREAS DEL SISTEMA MESOLÍMBICOCORTICAL DEL
ROEDOR”.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICO BIÓLOGA.**

PRESENTA:

Brenda Suhuy-Ha Ayala Moreno.



MÉXICO, D.F. SEPTIEMBRE DE 2014.



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: ANA MARÍA VÁZQUEZ ÁLVAREZ.**

VOCAL: **Profesor: ÓSCAR ARMANDO PÉREZ MÉNDEZ.**

SECRETARIO: **Dr. ALBERTO SALAZAR JUÁREZ.**

1º SUPLENTE: **Profesor: JOSÉ IGNACIO PARAMO RAMÍREZ.**

2º SUPLENTE: **Profesor: MARÍA ELENA BRAVO GÓMEZ.**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA “RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ”.

**LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA CONDUCTUAL, MICROCIRUGÍA Y TERAPÉUTICA
EXPERIMENTAL.**

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Alberto Salazar Juárez.

SUPERVISOR TÉCNICO:

MVZ. Susana Barbosa Méndez.

SUSTENTANTE:

Brenda Suhuy-Ha Ayala Moreno.

ÍNDICE.

	Página.
I. MARCO TEÓRICO.	
1.1 Adicciones: Estadísticas nacionales e internacionales.....	8
1.2 Progresión del uso recreativo a la adicción.....	13
1.3 Cocaína. Información General.....	16
1.3a Estructura Química.....	18
1.3b Mecanismo de acción.....	18
1.3c Farmacología.....	19
1.3d Distribución, Metabolismo y Excreción.....	20
1.3e Efectos Farmacológicos:	
1.3e.i Reforzantes.....	21
1.3e.ii Negativos (A corto plazo).....	21
1.3e.iii Negativos (A largo plazo).....	22
1.3f Patrones de Uso y Consumo.....	23
1.3g Vías de administración.....	23
1.3h Terapias Farmacológicas.....	25
1.4 Sistema Neuronal de Recompensa (Mesolímbicocortical).....	26
1.4a Receptores Dopaminérgicos.....	27
1.5 Expresión Génica.....	28
1.6 Abstinencia.....	30
1.7 Hipótesis que han explicado el proceso de Abstinencia	
1.7a Teoría Clínica Trifásica.....	32

1.7b Teorías Neurobiológicas.	
1.7b.i Teoría de los procesos oponentes.....	35
1.7b.ii Neurobiología de la incubación del Craving.....	37
II. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.	
2. 1 c-Fos, Cocaína y Abstinencia.....	38
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	40
IV. OBJETIVOS.	
4.1 General.....	41
4.2 Específicos.....	41
V. MATERIALES Y MÉTODOS EXPERIMENTALES.	
5.1 Sujetos de Experimentación.....	42
5.2 Sustancias.....	42
5.3 Evaluación de la actividad locomotora.....	42
5.4 Sensibilización Locomotora.....	43
5.5 Obtención y Preparación del Tejido.....	43
5.6 Inmunohistoquímica contra c-Fos.....	44
5.7 Conteo Celular.....	45
5.8 Análisis Estadístico.....	46
5.9 Diseño Experimental.....	46
VI. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.	
6.1 Área Vento-Tegmental.....	50
6.2 Núcleo Accumbens Shell.....	53
6.3 Núcleo Accumbens Core.....	56

6.4 Corteza Prefrontal Infra-Límbica.....	59
6.5 Amígdala Baso-Lateral.....	62
6.6 Caudado-Putamen.....	65
VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	68
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
APÉNDICE.	
Lista de Abreviaturas.....	88

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS.

➤ Figuras.

Figura 1: Tendencia del consumo de drogas en la población mexicana de entre 12 y 65 años, en el periodo comprendido entre los años 2002 a 2011.....	8
Figura 2: Tendencia de la edad media de inicio del consumo de drogas en México....	9
Figura 3: Consumo de drogas de impacto en la población mexicana por región geográfica en el periodo comprendido entre 1994-2009.....	9
Figura 4: Distribución del consumo de drogas en la población,	
a) 12 a 17 años, b) 18 a 34 años.....	10
c) 35 a 65 años.....	11
Figura 5: Poliuso de drogas. Porcentaje de usuarios de cocaína y otras drogas de impacto.....	11
Figura 6: a) Consumo de cocaína en México.	
a) Usuarios por edad, b) Edad de inicio, c) Principales vías de administración utilizadas.....	12

Figura 7: Prevalencia del uso de cocaína a nivel mundial en el año 2010.....	12
Figura 8: Planta de <i>Erythroxylum coca</i>	17
Figura 9: Formas químicas de la cocaína. a) Sal de Clorhidrato, b) Cristales.....	18
Figura 10: A) Estructura Química B) Forma Tridimensional.....	18
Figura 11: Mecanismo de Acción de la cocaína.....	19
Figura 12-15: Vías de Administración.....	23-24
Figura 16: Curva temporal de la concentración plasmática de cocaína, según la vía de administración.....	25
Figura 17: Ruta de las Vías Dopaminérgicas del Sistema Mesolímbicocortical.....	27
Figura 18: Cascada de señalización para la expresión del gen FOS.....	29
Figura 19: Explicación gráfica de los procesos oponentes, mediante la técnica de microdiálisis.....	36
Figura 20: Diagrama Experimental del trabajo de caracterización del patrón de activación neuronal de sujetos adictos a cocaína en abstinencia.....	47
Figura 21: Gráfica de la variación del número de células inmunoreactivas a c-Fos en el VTA, a lo largo de los 90 días del periodo de abstinencia.....	50
Figura 22: Gráfica de la variación del número de células inmunoreactivas a c-Fos en el NAcc Shell, a lo largo de los 90 días del periodo de abstinencia.....	53
Figura 23: Gráfica de la variación del número de células inmunoreactivas a c-Fos en el NAcc Core, a lo largo de los 90 días del periodo de abstinencia.....	56
Figura 24: Gráfica de la variación del número de células inmunoreactivas a c-Fos en la CPF IL, a lo largo de los 90 días del periodo de abstinencia.....	59
Figura 25: Gráfica de la variación del número de células inmunoreactivas a	

c-Fos en la ABL, a lo largo de los 90 días del periodo de abstinencia..... 62

Figura 26: Gráfica de la variación del número de células inmunoreactivas a

c-Fos en el CPu, a lo largo de los 90 días del periodo de abstinencia..... 65

➤ Tablas.

Tabla 1: Principales signos y síntomas observados durante la abstinencia..... 31-32

Tabla 2: Etapas del proceso de abstinencia según Gawin y Kleber..... 34

Tabla 3 Valor promedio del número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos contabilizadas por unidad de área en los animales del grupo SAL..... 48

Tabla 4: Serie fotográfica de la activación neuronal en el VTA a lo largo de los 90 días de abstinencia..... 50

Tabla 5: Serie fotográfica de la activación neuronal en el NAcc Shell a lo largo de los 90 días de abstinencia..... 53

Tabla 6: Serie fotográfica de la activación neuronal en el NAcc Core a lo largo de los 90 días de abstinencia..... 56

Tabla 7: Serie fotográfica de la activación neuronal en la CPF IL a lo largo de los 90 días de abstinencia..... 59

Tabla 8: Serie fotográfica de la activación neuronal en la ABL a lo largo de los 90 días de abstinencia..... 62

Tabla 9: Serie fotográfica de la activación neuronal en el CPu a lo largo de los 90 días de abstinencia..... 65

I. MARCO TEÓRICO.

1.1 ADICCIONES: ESTADÍSTICAS NACIONALES E INTERNACIONALES.

El uso y abuso de sustancias adictivas constituye a nivel mundial uno de los mayores problemas de salud pública de nuestra época. Este fenómeno afecta principalmente a jóvenes y adolescentes, sin distinción de género, edad, raza o nivel socioeconómico. Estudios epidemiológicos han demostrado que el uso de drogas adictivas es un fenómeno cambiante, que existe desde varias décadas atrás y al paso del tiempo aumenta de forma gradual, llama la atención el aumento en el número de mujeres consumidoras de alguna droga.

En México según la Encuesta Nacional de Adicciones (ENA) hasta el 2011 el 1.8 % de la población consumía activamente algún tipo de droga adictiva (Figura 1), siendo la cocaína la segunda droga más consumida con un 0.5 % de la población, observándose un incremento gradual respecto a los años previos (ENA, 2011).

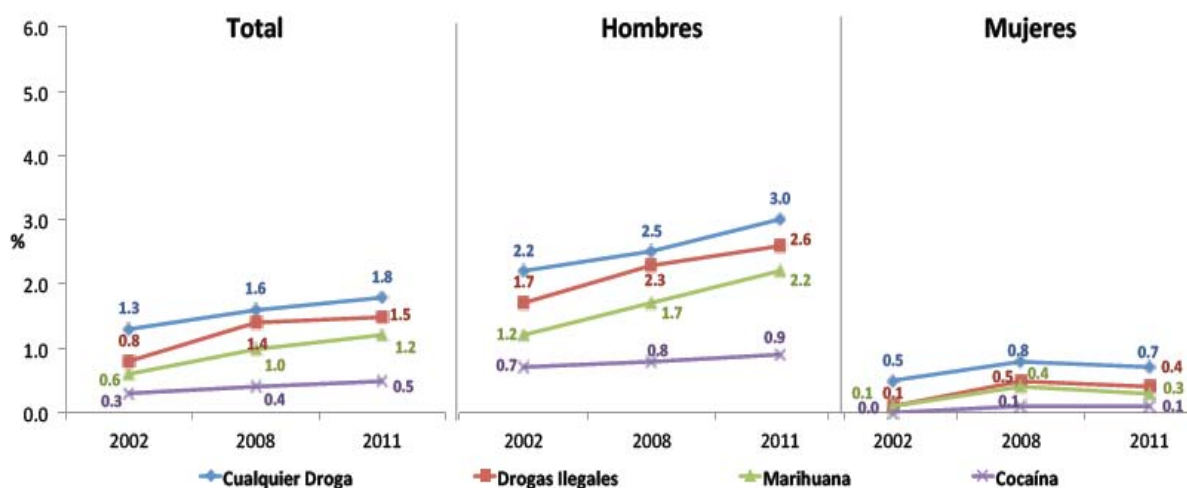


Figura 1: Tendencia del consumo de drogas en la población mexicana de entre 12 y 65 años, en el periodo comprendido entre los años 2002 a 2011. Fuente: Encuestas Nacionales de Adicciones 2002, 2008 y 2011. Tomado de: Encuesta Nacional de Adicciones 2011.

También se reportó que la edad promedio de inicio del consumo de drogas se ubica en 18.8 años; que los hombres inician casi dos años antes que las mujeres (Figura 2) y las áreas del país más afectadas son las zonas urbanas lo que representa el 77.8 % de la población total (ENA, 2011). Por su parte, hace varios años ya que el Sistema de

Vigilancia Epidemiológica de las Adicciones (SISVEA, 2009) ubicó el mayor consumo de cocaína en la zona centro del país (Figura 3).

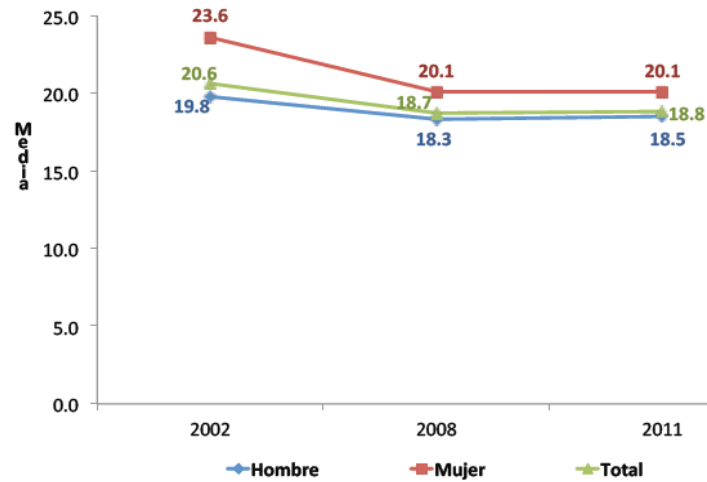


Figura 2: Tendencia de la edad media de inicio del consumo de drogas en México. Fuente: Encuestas Nacionales de Adicciones 2002, 2008 y 2011. Tomado de: Encuesta Nacional de Adicciones 2011.

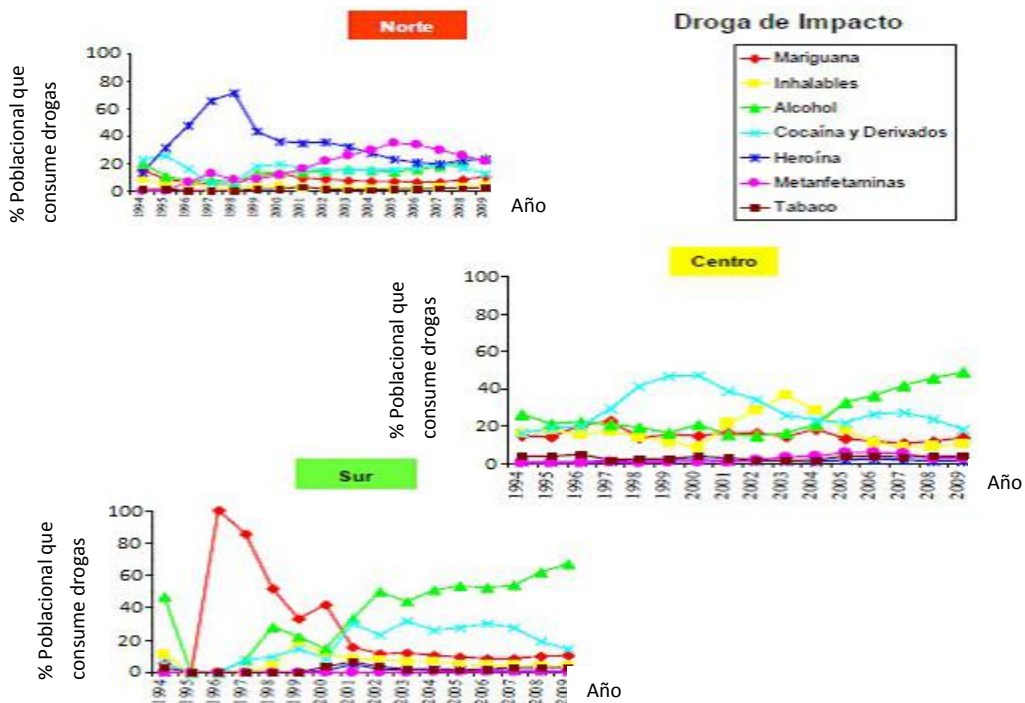
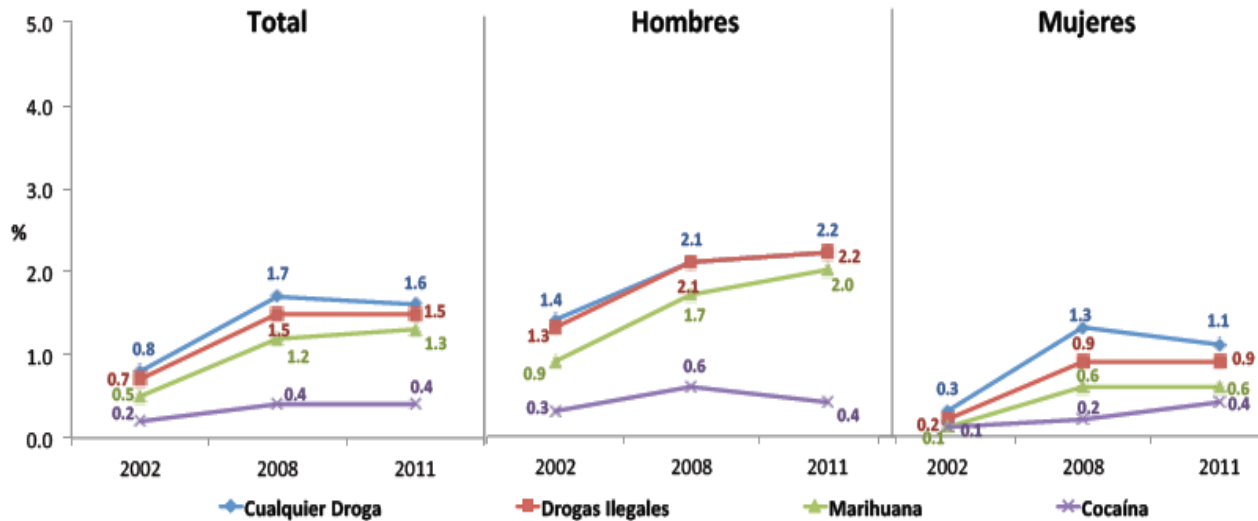
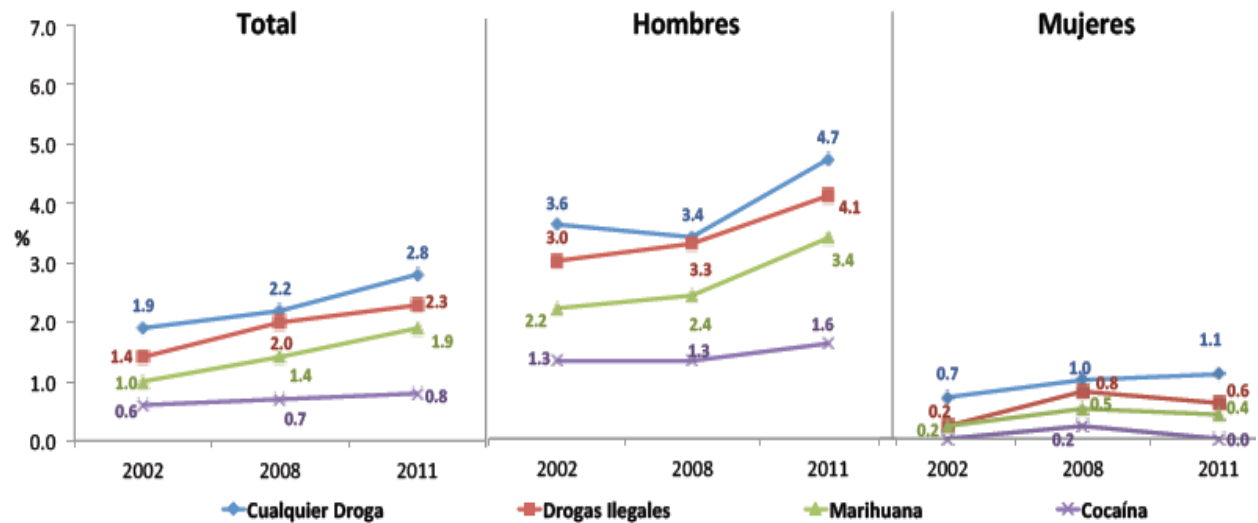


Figura 3: Consumo de drogas de impacto en la población Mexicana por región geográfica en el periodo comprendido entre 1994-2009. Fuente: SISVEA. Centros De Tratamiento No Gubernamentales 1994-2009. Modificado de: Informe SISVEA, 2009.

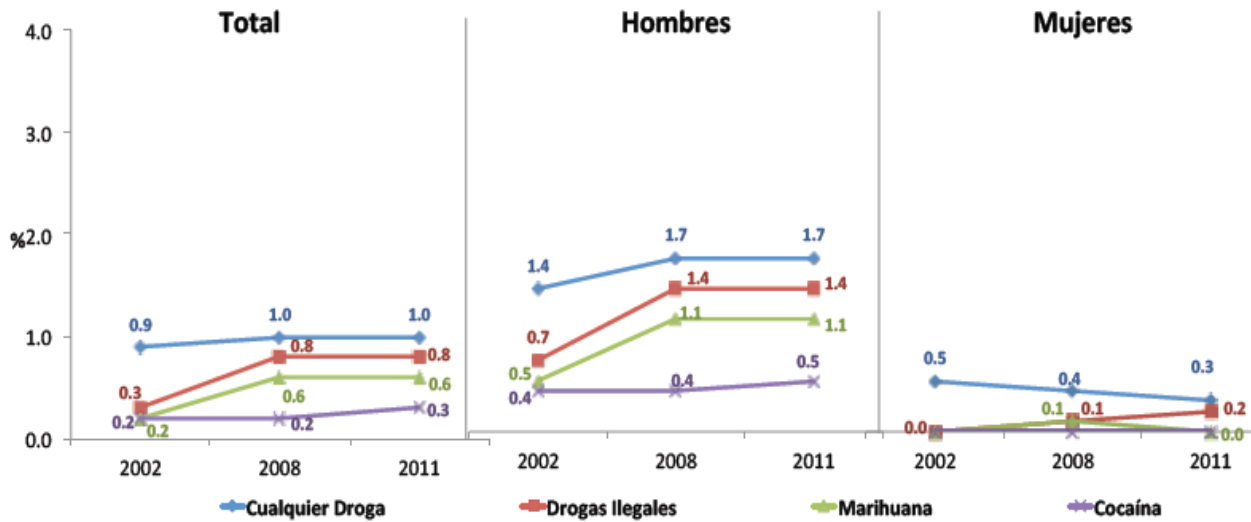
En el sector poblacional ubicado entre los 18 y 34 años se encontró la prevalencia más alta de consumo de drogas adictivas (Figura 4) y aunque es un hecho que el consumo de cocaína no es exclusivo de varones (ENA, 2011) la encuesta indica que los principales consumidores son de sexo masculino.



4a (arriba)



4b (arriba)



4c (arriba)

Figura 4: Distribución del consumo de drogas en la población. a) 12 a 17 años b) 18 a 34 años c) 35 a 65 años. Fuente: Encuestas Nacionales de Adicciones 2002, 2008 y 2011. Tomado de: Encuesta Nacional de Adicciones 2011.

Sólo en la Ciudad de México, el 0.87 % de la población entre 12 y 65 años participante en la encuesta del Instituto para la Atención y Prevención de las Adicciones (2006) indicó haber consumido cocaína en el último mes, el 1.63 % en el último año y 6.08 % alguna vez en su vida (IAPA, 2006). Otras encuestas (SISVEA, 2009; SRID, 2011) mencionaron que la cocaína no es comúnmente utilizada como droga de inicio, pero si es de las drogas de impacto más consumidas (Figura 5). La mayoría de los usuarios utiliza más de una droga ya sea de manera simultánea o sucesiva (SISVEA, 2009). A este tipo de consumo, se le conoce como poliuso.

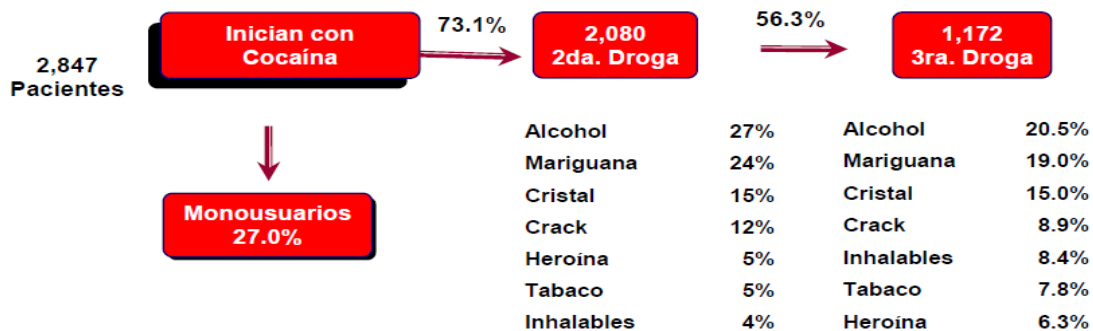


Figura 5: Poliuso de drogas. Porcentaje de usuarios de cocaína y otras drogas de impacto. Fuente: SISVEA. Centros de Tratamiento No Gubernamentales. Tomado de: Informe SISVEA, 2009.

El Sistema de Reporte de Información en Drogas (SRID) indicó que con respecto a la cocaína el 0.8% de la población inicia el consumo antes de los 11 años, el 46.9% entre los 15 y los 19 años, siendo este el sector de la población más afectado. El grado de consumo es alto en el 28.7% de los casos (mayor a 20 días en un mes) y las vías de administración más utilizadas son: fumada: 62.3% e inhalada: 35.1% (SRID, 2011).

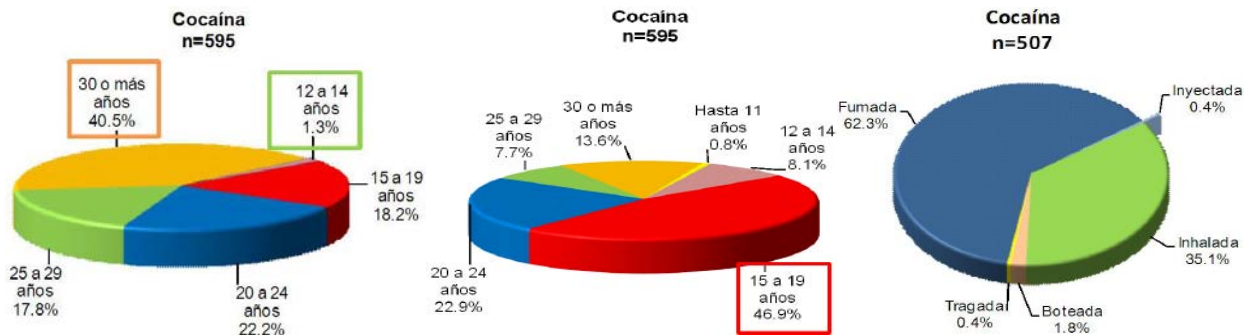
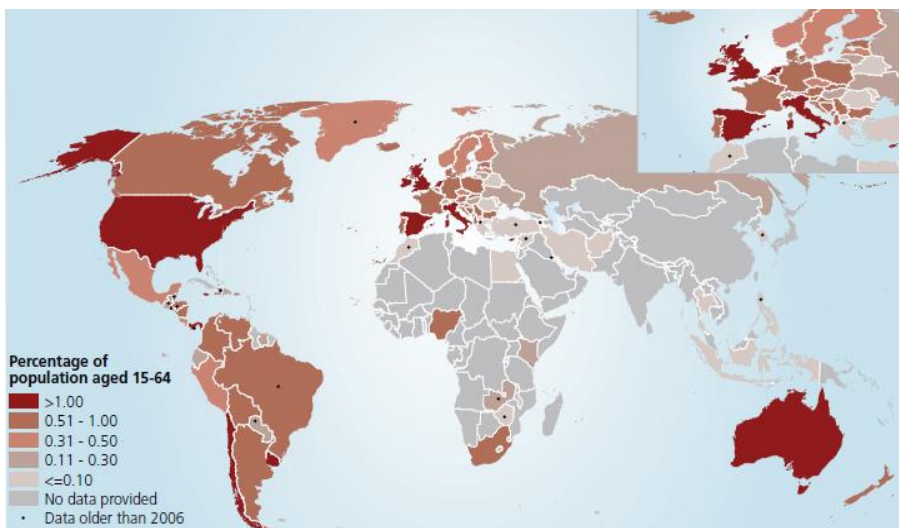


Figura 6: Consumo de cocaína en México. a) Usuarios por edad (Izq). b) Edad de inicio (Centro). c) Principales vías de administración utilizadas (Der). Fuente: Ortiz A., Martínez R., Meza D., Junio 2011. SRID. INPRFM Tomado de: Reporte SRID,

La Oficina de Naciones Unidas Contra la Droga y el Delito (UNODC, por sus siglas en Ingles) publicó en el *World Drug Report (2012)* que a nivel mundial en el año 2010 existían alrededor de 230 millones de personas usuarias de alguna droga ilícita (Figura 7), representando el 5 % de la población mundial, de estos entre 7.150.000 y 7.380.000 de personas entre 15 y 64 años, son usuarios de cocaína solo en América. También señaló que México se encuentra ubicado entre los países con más crímenes



relacionados al tráfico de drogas (UNODC World Drug Report, 2012).

Figura 7: Prevalencia del uso de cocaína a nivel mundial en el año 2010. Fuente: UNODC. Tomado de: World Drug Report, 2012.

En México, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) reportó que en el año 2010 la población era de 112.336.538 habitantes, de los cuales 2.022.057 eran adictos a algún tipo de droga, de estos 561.683 eran usuarios de cocaína (INEGI, 2010). En términos de crecimiento poblacional, en el periodo de 2008-2011 se agregaron 100,000 personas dependientes ÚNICAMENTE a cocaína (ENA, 2011).

Los datos previamente presentados no sólo son cifras alarmantes, existe el agravante de que el sector poblacional mayormente afectado son jóvenes y adultos en plena edad productiva, reflejando en el mejor de los escenarios una verdadera problemática de salud nacional. Aunque fueron tomados de encuestas oficiales, debe mencionarse que estas fuentes no siempre consideran a todos los sectores poblacionales, por lo que cabe la posibilidad de que exista algún sesgo en los resultados reportados.

1.2 PROGRESIÓN DEL USO RECREATIVO A LA ADICCIÓN.

El límite entre las etapas del proceso adictivo no está claramente definido, el curso en cada persona es diferente y depende de las características fisicoquímicas de la forma química utilizada, la pureza, la vía de administración, la dosis y la frecuencia de uso (Washton, 1995). A continuación se explica de forma general este proceso:

Uso: Consumo con fines recreativos o experimentales, es la modalidad más común y son mínimas las consecuencias negativas inmediatas sobre la persona. El sujeto consume la droga principalmente motivado por la curiosidad, la presión social y/o el deseo de compartir una experiencia placentera "supuestamente inofensiva" (Washton, 1995).

Progresivamente el consumidor experimental comienza a planear eventos de consumo en situaciones determinadas, el uso puede aún ser intermitente o esporádico; Esta es una etapa particularmente peligrosa, pues debido a la estimulación repetida del sistema de recompensa cerebral, empiezan a producirse cambios bioquímicos en el cerebro (Washton, 1995).

Abuso: Consiste en un patrón de consumo recurrente y des-adaptativo que conlleva a un deterioro o malestar clínicamente significativo, agravado por uno o más de los siguientes criterios (Washton, 1995; Meana y Barturen, 1993):

1. Incumplimiento de obligaciones en el trabajo, la escuela o el hogar.
2. Consumo en situaciones, en la que hacerlo es físicamente peligroso.
3. Problemas legales repetidos, relacionados con el uso de la sustancia.
4. Consumo continuado a pesar de tener problemas laborales, escolares o interpersonales.

Dependencia: Consumo de la sustancia con el fin de evitar los efectos que provoca su carencia, es decir un cuadro clínico resultante de modificaciones estructurales a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC). El consumo se caracteriza por estar motivado con el fin de evitar (uso preventivo) y/o disminuir (uso paliativo) los efectos provocados por su suspensión. Cuando la vida del sujeto, gira prioritaria o exclusivamente en torno a la búsqueda y consumo de la sustancia; es cuando se habla de una dependencia a dicha sustancia (Goodman y Gilman, 1990). Pueden encontrarse dos tipos:

La *dependencia psíquica*, dada cuando la privación de la droga provoca sensación de malestar, ansiedad y depresión. Se alteran las costumbres, dejando un vacío que permite la reaparición del malestar que el consumidor intentaba suprimir (Meana y Barturen, 1993).

La *dependencia física*, se refiere a cuando el organismo reclama la sustancia mediante la aparición de síntomas físicos, que se traducen en un estado fisiológico de carencia o malestar físico, conocido como Síndrome de Abstinencia (Washton, 1995; Goodman y Gilman, 1990).

Adicción: Se usa para describir a la persona dependiente que ha adquirido un hábito de consumo COMPULSIVO que domina al individuo a pesar del conocimiento de los efectos adversos provocados sobre su salud y vida social. En este punto la

pretensión de obtención y consumo de la droga se convierte en la actividad más importante de la vida del sujeto. Esta fase se caracteriza por alteraciones neurofisiológicas asociadas al deseo incontrolable de consumo que altera los patrones conductuales cuando se impide el acceso a ella (Washton, 1995; Meana y Barturen, 1993).

Intoxicación: Cuadro clínico que se presenta cuando un sujeto consume dosis supra-umbrales del psicoestimulante, está definido por los siguientes criterios (Goodman y Gilman, 1990; Meana y Barturen, 1993):

1. Presencia de un síndrome reversible específico, debido a su ingestión reciente.
2. Cambios desadaptativos en el comportamiento clínicamente significativos, debidos al efecto sobre el SNC.
3. Presencia de dos o más de los siguientes signos. Los síntomas no se deben a una enfermedad médica y no se explican por la presencia de otro trastorno mental:

- | | |
|---|---|
| ✧ Taquicardia o bradicardia. | ✧ Depresión respiratoria. |
| ✧ Dilatación pupilar. | ✧ Dolor en el pecho o arritmias cardíacas. |
| ✧ Aumento o disminución de la Tensión Arterial. | ✧ Confusión. |
| ✧ Sudoración o escalofríos. | ✧ Ataques epilépticos. |
| ✧ Náuseas o vómitos. | ✧ Discinesias (movimientos anormales e involuntarios). |
| ✧ Agitación o retrasos psicomotores. | ✧ Distonías (contracciones sostenidas de los músculos). |
| ✧ Debilidad muscular. | ✧ Coma. |

Tolerancia: Consiste en la disminución del efecto obtenido por el consumo de una sustancia cuando se usa de manera regular. El sujeto que desarrolla tolerancia buscará la manera de obtener la misma intensidad del efecto lográndolo únicamente aumentando la dosis de consumo (Washton, 1995; Meana y Barturen, 1993; Goodman y Gilman, 1990). Existen varios tipos de tolerancia:

- a) Tolerancia Cruzada: Se genera tolerancia a más de una droga, aun cuando no se haya tenido contacto con otras sustancias.
- b) Tolerancia Inversa: Es la capacidad de producir el mismo efecto farmacológico, con dosis cada vez menores.
- c) Tolerancia Farmacocinética (Metabólica): Esta determinada, por las características del propio fármaco.
- d) Tolerancia Farmacodinámica (Funcional): También denominada celular o tisular. Se desarrolla en los sitios de acción de las drogas (tejidos, receptores).

Sensibilización: Aumento progresivo y permanente de la respuesta a la administración de una misma concentración o dosis de la droga. Representa la consolidación de cambios plásticos cerebrales, debidos al consumo crónico (Goodman y Gilman, 1990; Kuribara, 1996).

1.3 COCAÍNA: INFORMACIÓN GENERAL.

La cocaína es un psicoestimulante extremadamente adictivo, fue llamada la droga de los 80's y 90's debido a la gran popularidad y uso extendido en esas décadas. Las hojas de coca se han ingerido por miles de años. La sustancia química pura, el Clorhidrato de Cocaína, se ha consumido por más de 100 años (NIH, 2011).

Es un alcaloide contenido (aprox. 1% p/p) en las hojas de *Erythroxylum coca* (Figura 8) principalmente, aunque puede encontrarse en otras especies de *Erythroxylum* árboles nativos de Perú y Bolivia donde tradicionalmente los habitantes

mastican o chupan las hojas para aumentar su rendimiento y promover la sensación de bienestar (Goodman y Gilman, 1990).



Figura 8: Planta de *Erythroxylum coca*.
Tomado de: (NIH, 2011).

En los 90's, Colombia se convirtió en el país con mayor cultivo de coca. Hoy en día es considerada una sustancia con gran potencial de abuso, aunque puede ser administrada por un médico para usos legítimos (Meana y Barturen, 1993).

El consumo de cocaína va desde el uso ocasional al consumo compulsivo con una variedad de patrones entre ambos. Fuera del uso médico controlado no existe una manera segura de consumirla. Cualquier forma de consumo puede causar la absorción de cantidades tóxicas de la droga con la posibilidad de ocurrir una emergencia aguda de tipo cardiovascular, cerebrovascular y/o convulsiones, cualquiera de las cuales conlleva riesgo de muerte (Goodman y Gilman, 1990).

Se vende usualmente en la calle en forma de polvo blanco, fino y cristalino conocido coloquialmente como "coca", "piedra", "nieve", "dama blanca" o "talco". Los traficantes generalmente la mezclan con sustancias inertes, tales como fécula de maíz, talco, azúcar o con ciertas drogas activas como la procaína. (Goodman y Gilman, 1990; Washton, 1995; NIH, 2011).

Las formas químicas en las que la cocaína se consume son: A) La sal de clorhidrato (soluble en agua) que se usa de forma inyectada o inhalada ("snorting") (Figura 9 A y B) los cristales de cocaína o Freebase (insolubles en agua) que son procesados en solución acuosa de amoníaco o bicarbonato sódico y calentados para liberar la sal de clorhidrato (Figura 9B), esta forma es conocida como "Crack" o "Piedra", refiriéndose al sonido crujiente que se oye al fumar este compuesto (Goodman y Gilman, 1990; Washton, 1995; Meana y Barturen, 1993; NIH, 2011).



Figura 9: Formas químicas de la cocaína. A) Sal de Clorhidrato (Polvo) Izq. B) Cristales (Crack) Der. Tomado de: (NIH, 2011).

Estructura Química.

La cocaína, es una benzoilmetilecgonina, es decir, un éster de ácido benzoico y una base aminoalcohólica íntimamente relacionada con la tropina (Figura 10). Su fórmula química es: $C_{17}H_{21}NO_4$ (Goodman y Gilman, 1990).

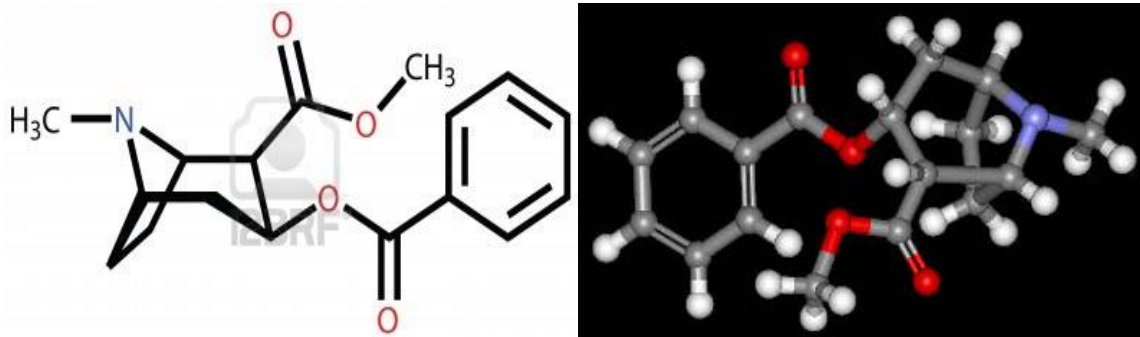


Figura 10: A) Estructura Química. Izquierda B) Forma Tridimensional. Derecha. Tomado de: http://cerezo.pntic.mec.es/~jgarc247/2_bachto/anho_internacional_quimica/04cocaina.htm

Mecanismo de Acción.

En el proceso neuroquímico normal de comunicación interneuronal al recibir un estímulo la neurona pre-sináptica libera dopamina (DA) hacia la hendidura sináptica, una vez ahí tiene 3 posibles destinos (Callado, 2001):

- 1 Unión a los receptores de dopamina de la neurona post-sináptica.

2. La dopamina que no se unió a algún receptor será retirada mediante transportadores de recaptura, una vez que cruza por el transportador es vesiculada dentro del botón sináptico, permitiendo la utilización posterior de la molécula. La vesiculación de DA, es un evento que actúa como mecanismo regulador señalizando la detención de la liberación de dopamina.

3. La DA que quede libre será metabolizada mediante mecanismos enzimáticos.

Durante el consumo las moléculas de cocaína bloquean al transportador (Figura 11). Por lo que ya no es posible la recaptura de DA, de forma consecuente no hay vesiculación, ni señalización para la detención de la liberación de DA. Finalmente habrá una acumulación anormal y excesiva del neurotransmisor en la hendidura sináptica traduciéndose en una sobre-estimulación de las neuronas post-sinápticas (NIDA, 2001).

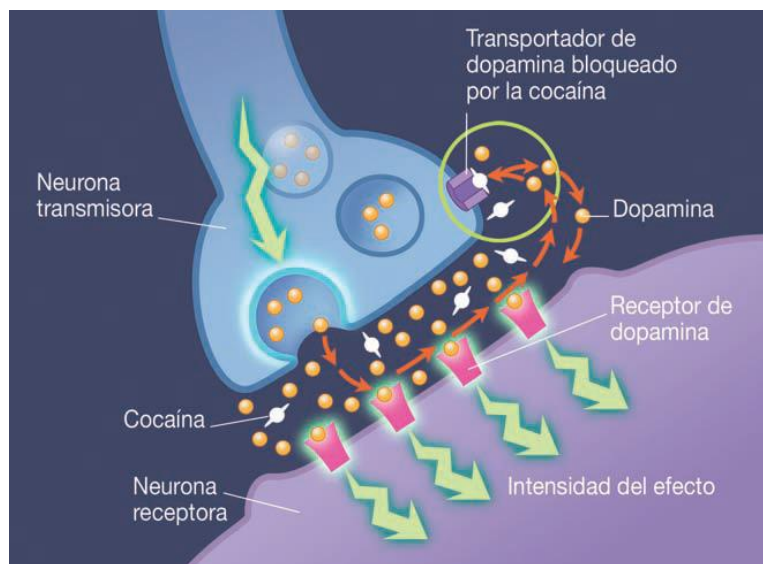


Figura 11: Mecanismo de Acción de la cocaína (Bloqueo del transportador de recaptura de DA). Tomado de: (NIH, 2011).

Farmacología.

El principal efecto farmacológico de la cocaína es el bloqueo de la iniciación y/o conducción del impulso nervioso. Su efecto sistémico más notable es la estimulación del SNC, aunque también tiene efecto sobre otros sistemas (Goodman y Gilman, 1990):

SNC: Produce mejoría del estado de ánimo, aumenta el autoestima, la capacidad mental y física, disminuye el apetito y la necesidad de sueño. Inicia con sensación de bienestar y euforia, se mantiene bien coordinada la actividad motora. Al aumentar la dosis, aparecen temblores y eventualmente convulsiones tónico-clónicas, puede aparecer emesis. La sobre-estimulación es seguida por depresión de los centros bulbares y muerte en consecuencia de falla respiratoria (Goodman y Gilman, 1990; Washton, 1995).

Sistema Nervioso Simpático: Potencia la respuesta de órganos con enervación simpática a la noradrenalina (NA) y en menor grado a la adrenalina. Debido al bloqueo en la recaptura de catecolaminas, se exacerban las acciones mediadas por impulsos adrenérgicos y catecolaminas circulantes. (Goodman & Gilman, 1990).

Sistema Cardiovascular: Dosis pequeñas disminuyen la frecuencia cardiaca como resultado de la estimulación vagal central, a dosis moderadas la frecuencia cardiaca aumenta debido a la mayor estimulación central simpática. Una dosis intravenosa alta, puede producir la muerte inmediata por arritmia, infarto al miocardio o insuficiencia cardiaca (Goodman y Gilman, 1990; Meana y Barturen, 1993).

Temperatura Corporal: Es altamente pirogénica. La mayor actividad muscular aumenta la producción de calor, la vasoconstricción disminuye la pérdida de calor. El escalofrío indica el ajuste del organismo a una temperatura superior, la pirexia por cocaína es a menudo una característica de intoxicación (Goodman y Gilman, 1990).

Distribución, Metabolismo y Excreción.

Una vez administrada, es rápidamente distribuida encontrándose altas concentraciones en sitios con alta irrigación sanguínea como el cerebro. El 8% es metabolizado por esterasas hepáticas, produciendo ésteres de metilecgonina y benzoilecgonina (Warner, 1993). El 5% es excretada por la orina sin metabolizar. La vida media de la cocaína en plasma es de 1 hora (Fleming, Byck y Barash, 1990).

Efectos Farmacológicos de la Cocaína.

Reforzantes.

Los efectos agudos consisten en un estado de euforia conocido como "high", asociado con un aumento de la energía vital, confianza, vigilancia psíquica y deseo sexual; se presenta casi inmediatamente después de una sola dosis y desaparece en cuestión máxima de una hora. Las personas se tornan abiertas a la comunicación, espontáneas y animadas (Washton, 1995). Los pequeños consumidores experimentan euforia, se muestran energéticos, conversadores y mentalmente alerta, particularmente en relación a sensaciones visuales, auditivas y del tacto. Disminuye temporalmente el apetito y la necesidad de dormir, la tensión, fatiga y/o timidez preexistentes. En el periodo inicial de consumo predominan los efectos positivos y se presentan pocos o ningún efecto negativo (Washton, 1995; Goodman y Gilman, 1990).

La vía de administración determina la duración del efecto. Mientras más rápida es la absorción más intenso es el "high" o euforia resultante; pero mientras más rápida sea la absorción menor es la duración del efecto de la droga. El "high" producido por inhalación puede durar de 15 a 30 minutos, mientras que al ser fumada dura entre 5 a 10 minutos (Meana y Barturen, 1993).

Negativos (A corto plazo).

Al usar cantidades mayores se intensifica el "high" llevando a un comportamiento más extravagante, errático y violento. Algunos consumidores presentan inquietud, ansiedad, agitación, irritabilidad, insomnio, suspicacia, confusión, desasosiego, hipervigilancia y pensamientos de tipo paranoide, dependiendo de la susceptibilidad individual a la droga (NIH, 2011; Washton, 1995).

Pueden presentar temblores, vértigo o espasmos musculares, además de existir graves complicaciones médicas entre las que se encuentran efectos cardiovasculares (alteraciones en el ritmo cardíaco y ataques al corazón); efectos neurológicos (ataques

cerebrovasculares, convulsiones, dolores de cabeza y coma) y complicaciones gastrointestinales (dolor abdominal y náusea) (NIH, 2011). La muerte suele ser resultado de un paro cardíaco o convulsiones, seguidas por un paro respiratorio (Goodman y Gilman, 1990).

Negativos (A largo plazo).

Al ser expuesto repetidamente el cerebro comienza a adaptarse y las vías de gratificación se vuelven menos sensibles a refuerzos naturales y a la droga en sí. La cocaína tiene una vida media corta, por lo que sus efectos euforizantes son breves y van seguidos de un estado altamente disfórico, que intensifica el contraste con la sensación de bienestar que previamente produjo (NIH, 2001; Washton, 1995).

De forma progresiva el consumidor se vuelve tolerante al efecto de la cocaína, se intensifican los efectos negativos, el adicto presenta un consumo compulsivo y necesita dosis cada vez mayores o consumirla con más frecuencia para obtener el mismo placer que cuando recién comenzó a usarla. Sin embargo, ya no vuelve a un estado anímico normal sino que evoluciona hacia un estado de disforia cada vez más intensa, progresando paulatinamente hacia un estado depresivo, lo que a su vez, le impone el consumo de más cocaína en un intento inútil de normalización del humor (Washton, 1995).

Las reacciones adversas asociadas al consumo se diversifican respecto a la vía de administración. La inhalación regular causa pérdida del sentido del olfato, hemorragias nasales, problemas al tragar, ronquera e irritación del tabique nasal, lo que conduce a una condición crónica de irritación y salida de secreción por la nariz. Cuando se ingiere causa gangrena en los intestinos, debida a la reducción del flujo sanguíneo. Los usuarios intravenosos tienen marcas de pinchazos y trayectos venenosos conocidos como “tracks” y son candidatos potenciales a contraer el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) o Virus de Hepatitis C (VHC) debido al uso de agujas infectadas. Todos ellos pueden experimentar reacciones alérgicas a la droga o a los aditivos agregados y

en los casos más severos la muerte. El uso crónico, causa pérdida del apetito haciendo que muchos consumidores tengan una pérdida de peso significativa (NIH, 2011).

Patrones de Uso y Consumo.

Suele consumirse repetidamente y en dosis crecientes. Una embriaguez de cocaína (“Binge”) puede durar desde horas hasta varios días, generalmente es acompañada de alcohol, tabaco y/u otras drogas. Una gran parte de los adictos que buscan tratamiento, consumen grandes cantidades diarias de droga. Sin embargo, debido a que el patrón típico de consumo, consiste en encuentros ininterrumpidos seguidos por periodos breves de abstinencia, puede ser que también los individuos que no la usan de forma diaria tengan una dependencia grave (Washton, 1995). Con el tiempo las experiencias naturalmente reforzadoras son reemplazadas por la euforia inducida por la droga (Gawin y Ellinwood, 1988). Cuando la dependencia ya es extrema, intereses tales como alimento, familia, seguridad, reputación y la supervivencia en sí, se convierten en secundarios a la adquisición y consumo de la droga (Washton, 1995; Meana y Barturen, 1993).

Vías de Administración.

Administración Tópica: De uso médico como anestésico local. Existe una absorción limitada por vía cutánea, insuficiente para causar una respuesta psicotrópica. Los niveles plasmáticos en pacientes sometidos a procesos quirúrgicos son muy bajos (Goodman y Gilman, 1990).



Figura 12: Vía de Administración Oral. Tomado de: http://4.bp.blogspot.com/-BY9AUMwX_HU/UTdW0cYPIVI/AAAAAAAAb8/IIjIA31zLfg/s1600/coca.png

Administración Oral (Figura 12): Los efectos estimulantes obtenidos son mínimos, pues previamente a su llegada al torrente sanguíneo, se tritura (masticación) y se somete a procesos

metabólicos de degradación enzimática (Salivación), disminuyendo su concentración aún más.

Administración nasal (Figura 13): Consiste en la inhalación de la sal (Esnifar, Snorting), atravesando hacia el torrente sanguíneo mediante la mucosa nasal. Debido a la cercanía que existe con el cerebro se obtiene un rápido efecto. Las concentraciones plasmáticas máximas son proporcionales a la cantidad de cocaína administrada (Washton, 1995).



Figura 13: Vía de Administración Nasal. Tomado de: http://4.bp.blogspot.com/_0d8epZOK29k/TEsBnZzN9TI/AAAAAAAAAUy/-HMI0Z37NQU/s1600/cocaina.jpg



Figura 14: Vía de Administración Intravenosa.

Tomado de:

http://www.saludymedicinas.com.mx/assets/img/centros_salud/Centro%20de%20Salud%20Mental/R00483.jpg

Administración intravenosa (Figura 14): Es la vía que produce el efecto más rápido e intenso, al no pasar por procesos de absorción y metabolismo se tiene una disponibilidad inmediata de la droga en la sangre. Tiene múltiples problemas asociados ya que el uso de agujas aumenta el riesgo de contraer enfermedades como Hepatitis C o SIDA, sin considerar otras complicaciones (NIH; 2011).

Administración Pulmonar (Figura 15): Se calientan las "rocas" de cocaína en una pipa, lata o cuchara y se fuman los vapores. También se mezcla con el tabaco de cigarrillos fumándolo como un cigarrillo corriente.



Figura 15: Vía de Administración Pulmonar. Tomado de: <http://static.coto.me/image/thumb/0/690-279x210-width.jpg>

Debido a la alta irrigación sanguínea en los pulmones, los niveles plasmáticos alcanzados, son comparables a los obtenidos con los el uso intravenoso (Washton, 1995).

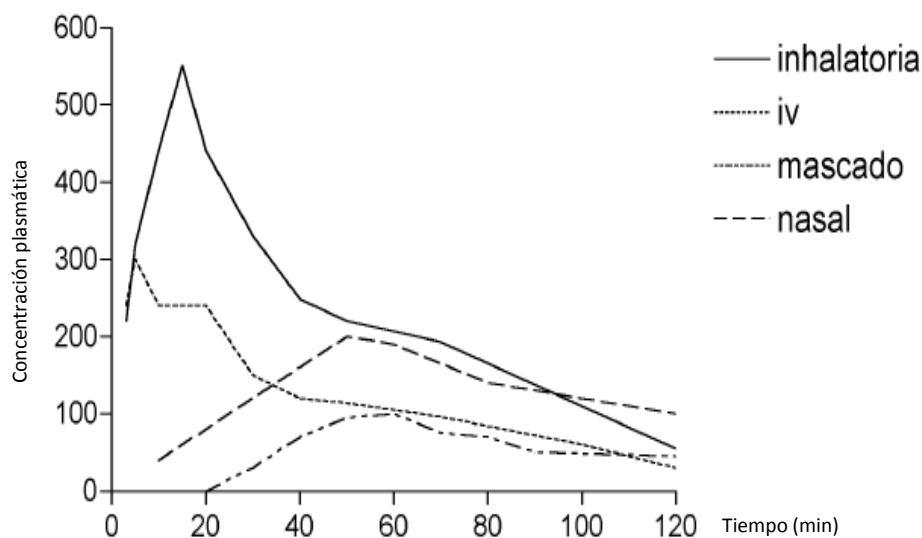


Figura 16: Curva temporal de la concentración plasmática de cocaína, según la vía de administración. Tomado de: (Callado, 2001)

Terapias Farmacológicas.

La mayoría de los adictos que buscan tratamiento fuman crack y son politoxicómanos. El abuso de cocaína se ha incrementado de tal manera que ha suscitado la necesidad de desarrollar programas de tratamiento para cocainómanos. Se trata de una enfermedad compleja que involucra cambios en el cerebro, así como innumerables problemas sociales, familiares y del entorno del adicto. Por lo que el tratamiento debe ser integral y las estrategias deben evaluar aspectos neurobiológicos, sociales y médicos (NIH, 2011).

En la actualidad, no hay un medicamento aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos que sirva para tratar la adicción a la cocaína. La atención está dirigida hacia el desarrollo de nuevos medicamentos, basados principalmente en el aprovechamiento de los cambios cerebrales que la droga provoca, trastornando el balance entre la neurotransmisión excitatoria y la inhibitoria (NIH, 2011).

1.4 SISTEMA NEURONAL DE RECOMPENSA (SISTEMA MESOLIMBICOCORTICAL).

El Sistema Mesolímbico-Cortical o Sistema de Recompensa Dopaminérgico (Figura 17) es un circuito neuronal encargado del procesamiento de información asociada a estímulos gratificantes o reforzadores, tanto naturales (comida, sexo) como externos (Drogas de abuso). Está estructurado por núcleos anatómicos interconectados que son responsables de la traducción, integración y transmisión de la información (Belsasso, Estañol y Juarez, 2001).

Al recibir un estímulo reforzante, el primer sitio implicado es el Área Ventro-Tegmental (VTA), en esta región se lleva a cabo la TRADUCCIÓN de la información relacionada a la droga psicoactiva, pues es sobre las membranas de neuronas dopaminérgicas localizadas en el VTA donde se encuentran los elementos celulares y moleculares necesarios para que la droga lleve a cabo el efecto reforzador, ya sea mediante la unión a receptores o sistemas de transporte de recaptura, que al ser estimulados inducen un aumento en la liberación de DA en el Núcleo Accumbens (NAcc). Las neuronas dopaminérgicas localizadas en el VTA proyectan a neuronas dopaminérgicas y GABAérgicas localizadas en el NAcc, por lo que son estas últimas las encargadas de la regulación de la liberación de DA por parte del VTA. El NAcc recibe una densa proyección dopaminérgica proveniente del VTA (Zahm, 2000).

En el NAcc, se lleva a cabo la INTEGRACIÓN de la información relacionada a la droga, esta área funciona como interfase entre el sistema límbico y el motor. Dependiendo de la intensidad del estímulo (dado por la cantidad de DA liberada en el NAcc) las neuronas en esta región asignan un valor al estímulo obtenido por la droga (Salience), aumentando la motivación por la búsqueda y consumo de la sustancia. El NAcc está conformado por dos regiones: el Shell (Núcleo Límbico) y el Core (Núcleo Motor) (Sesack, Carr, Omelchenko y Pinto, 2003).

Otras proyecciones dopaminérgicas provenientes de neuronas del VTA tienen terminación en neuronas glutamatérgicas de la Corteza Prefrontal (CPF) que está implicada en las capacidades ejecutivas esenciales en la vida, de ellas depende la

capacidad de valorar riesgos, posibilidades y de reflexionar antes de actuar, inhibiendo conductas que puedan dañarnos. En principio la proyección dopaminérgica del VTA activa neuronas de proyección glutamatérgica, localizadas en las capas profundas de la CPF, liberando glutamato sobre neuronas dopaminérgicas e interneuronas GABAérgicas localizadas en el NAcc, al activarse las interneuronas liberan Ácido Gamma Amino Butírico (GABA) sobre las neuronas dopaminérgicas inhibiendo su actividad, pero al ser estimuladas de forma constante sufren alteraciones neurofuncionales que generan el desarrollo de la conducta compulsiva característica de la adicción (Berke y Hyman, 2000).

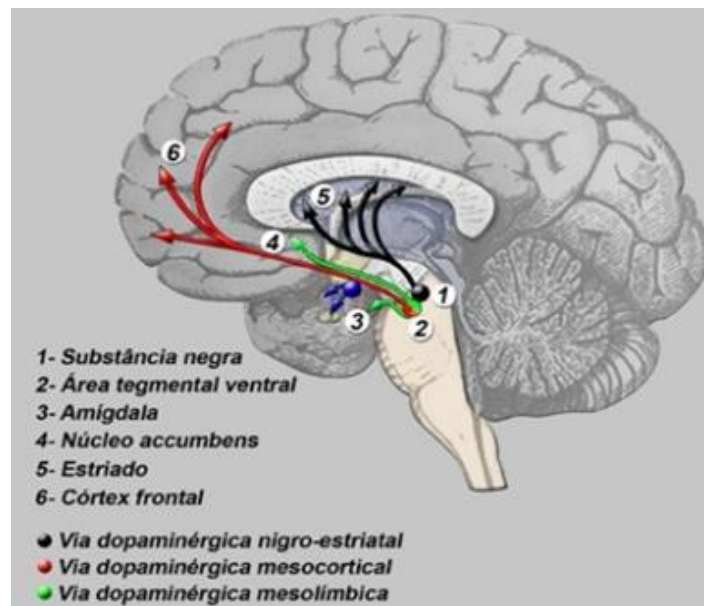


Figura 17: Ruta de las Vías Dopaminérgicas del Sistema Mesolímbico-cortical. Tomado de: <http://bluesmarteurope.files.wordpress.com/2013/10/circuito-cerebral-de-la-motivacion1.jpg>

Receptores Dopaminérgicos.

La transmisión dopaminérgica está mediada por receptores membranales de tipo metabotrópico. Existen cinco subtipos designados como D1 a D5, cada subtipo puede ser categorizado como D1-like (D1 y D5) o D2-like (D2, D3 y D4) basado en la homología de la secuencia y en su farmacología (Sibley, Monsma y Shen, 1993).

El estriado tiene una alta densidad de receptores D1 y D2 y bajos niveles de los otros 3 subtipos (Bordet y cols., 1997). Los D1 están localizados principalmente sobre neuronas estriatales que proyectan a la parte interna del globo pálido/sustancia nigra, se acoplan a proteínas G inhibitorias y estimulan a la proteína Adenilato Ciclasa (AC). Los D2 se encuentran en las proyecciones que van a la parte externa del globo pálido. (Khan, Mrzljak, Gutierrez, De la Calle y Goldman-Rakic, 1998), se acoplan a proteínas Gi/Go inhibiendo a la Adenilato Ciclasa y activan los canales de potasio rectificadores (Berke y Hyman, 2000).

El efecto de la exposición repetida a cocaína sobre la densidad de receptores dopaminérgicos, depende de factores como la dosis, la vía de administración y la duración de los períodos de consumo/abstinencia (Anderson y Pierce, 2005). Se ha visto que el número de receptores D1 en el NAcc son regulados a la baja (Laurier, Corrigall y George, 1994) o no cambian inmediatamente después del consumo crónico de cocaína (Sousa, Gomes, Macedo, Marinho y Viana, 1999), pero muestran regulación a la alta después de largos períodos de abstinencia (Unterwald, Ho, Rubinfeld y Kreek, 1994).

1.5 EXPRESIÓN GÉNICA.

Cuando la DA se une al receptor, numerosas vías de señalización intracelulares son implicadas en la transmisión de la información que mediante la interacción con la Proteína de Unión a Elemento de Respuesta a AMPc (CREB), activando la transcripción de genes (Figura 18). (Shaywitz y Greenberg, 1999; Mayr y Montminy, 2001).

La activación de receptores de dopamina D1-like, estimula a receptores acoplados a proteínas Gs excitatorias, que a su vez estimulan a la AC, generando Adenosin Monofosfato cíclico (AMPc) activando/inhibiendo proteínas cinasas dependientes de AMPc, provocando un incremento de AMPc y causando la acumulación de subunidades catalíticas de Proteína Cinasa A (PKA) dependiente de AMPc. Las

subunidades catalíticas libres, entran al núcleo celular donde fosforilan a CREB, en la serina 133. (Sheng, Thompson y Greenberg, 1991; Xing, Ginty y Greenberg, 1996).

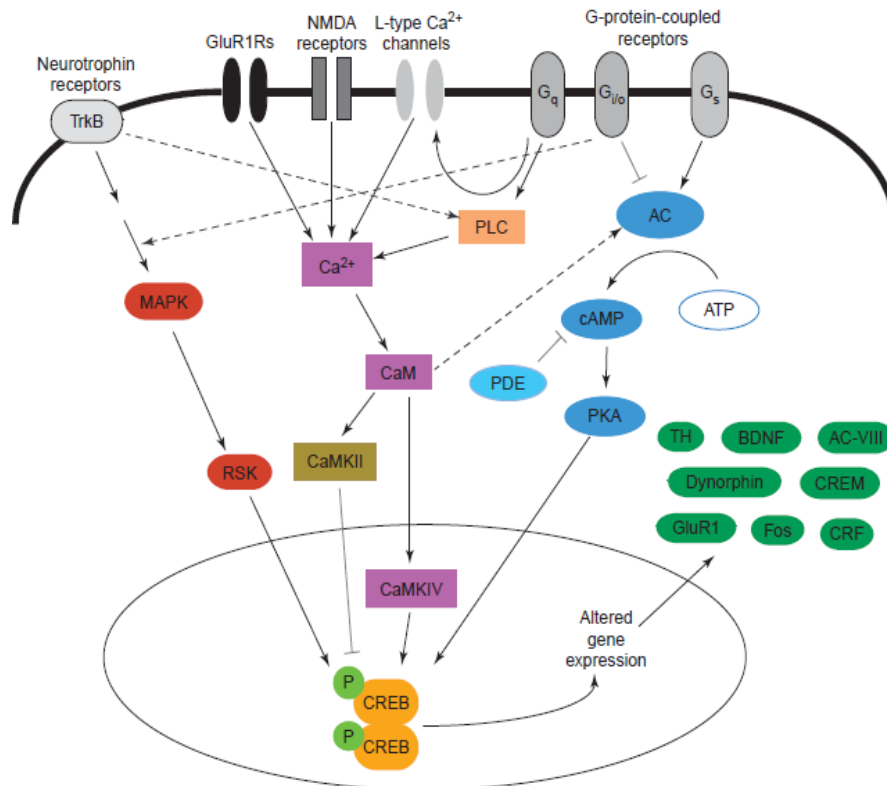


Figura 18: Cascada de señalización para la expresión del gen Fos. Tomado de: (Carlezon, 2005)

CREB es un factor de transcripción que se une al Elemento de Respuesta a AMPc (CRE), una sección de ADN que contiene la secuencia de nucleótidos consenso TGACGTCA. Los sitios CRE se encuentran dentro de la región reguladora de numerosos genes sujetos a regulación por CREB. Se piensa que los dímeros CREB están unidos a sus sitios de CRE de forma inactiva, los eventos que estimulan las cascadas de señalización intracelular causan la fosforilación de ambos miembros del dímero CREB y desencadenan su actividad transcripcional (Mayr y Montminy, 2001).

Los factores de transcripción como CREB, son cruciales para el acoplamiento estímulo-transcripción, la transmisión de eventos ocurridos en las membranas celulares, así como la regulación de la expresión de prácticamente todos los tipos de

proteínas neuronales. Entre los genes que regula se encuentran Fra, Jun y Fos (Carlezon, Duman y Nestler, 2005).

Se ha reportado que las alteraciones en los factores de transcripción provocadas por drogas de abuso, pueden inducir la expresión alterada de genes blanco específicos, lo que podría generar las anormalidades conductuales características de la adicción. Mediante la técnica de microarreglos se detectaron 117 genes afectados por la administración de cocaína de los cuales 89 son regulados al alta, en su mayoría factores de transcripción de genes de expresión temprana (Fos) y 22 genes regulados a la baja (Nestler, 2000; Nestler, 2005).

Fos fue la primera proteína descrita de una superfamilia de factores de transcripción que contienen en su estructura secundaria un cierre de leucinas, que promueve la dimerización con otros productos proteicos. Comúnmente, Fos dimeriza con los miembros de la familia Jun, dando lugar a los factores de transcripción denominados Proteína Activadora 1 (AP1) que se unen a secuencias consenso en el ADN (elementos de respuesta a AP1) (Morgan y Curran, 1989; Morgan y Curran, 1995).

Desde su descubrimiento a finales de los 80's, Fos ha sido utilizada como herramienta histológica para la caracterización de estímulos (farmacológicos o sensoriales) a nivel celular. Debido a su utilidad como marcador de actividad neuronal, la expresión de las proteínas Fos ha sido usada para la comprensión de patrones de activación neuronal, en áreas cerebrales en las que se lleva a cabo el mecanismo de acción de diversos fármacos (Herrera y Robertson, 1996).

1.6 ABSTINENCIA.

El Síndrome de abstinencia se define como: "Conjunto de signos y síntomas, que aparecen como consecuencia de la supresión o reducción del consumo de una droga y son característicos de cada tipo de droga". Se describen los siguientes tipos:

1. Síndrome de abstinencia agudo («Crash»): Es el cuadro clínico que se presenta de forma inmediata a la interrupción del consumo de la sustancia psicoactiva de la que se es dependiente. La intensidad y gravedad del síndrome depende del tipo y la cantidad de sustancia consumida. Estos síntomas se presentan después de períodos de consumo de dosis altas y repetidas («runs» o «binges»). Se caracteriza por la aparición de sentimientos intensos de lasitud y depresión, acompañados de ideas o comportamiento suicida (Martínez, Martín, Valero y Salguero, 2002).

2. Síndrome de abstinencia tardío: Conjunto de desregulaciones del sistema nervioso neurovegetativo y de las funciones psíquicas básicas, persiste durante meses o años de abstinencia. Este cuadro causa múltiples trastornos físicos y psíquicos al paciente, dificultando el desarrollo de una vida saludable y autónoma, contribuye a precipitar los procesos de recaída en la toxicomanía (Martínez y cols., 2002).

3. Síndrome de abstinencia condicionado: Se refiere a la aparición del cuadro típico de un síndrome de abstinencia agudo como consecuencia de exponer al individuo a señales ambientales que previamente fueron asociadas al consumo de la sustancia. Crea desconcierto en el paciente provocando ansiedad que probablemente precipite un nuevo evento de consumo (Martínez y cols., 2002).

En el síndrome de abstinencia característico de la cocaína, se presentan principalmente: ansiedad, depresión, anhedonia y craving, provocando un malestar clínico significativo, así como deterioro laboral y social (Martínez y cols., 2002). A continuación se muestran las bases neurobiológicas y neuroanatómicas que sustentan dichos síntomas.

TABLA 1: PRINCIPALES SIGNOS Y SÍNTOMAS OBSERVADOS DURANTE LA ABSTINENCIA.		
BASES NEUROBIOLÓGICAS.		
SÍNTOMA.	NEUROTRANSMISORES INVOLUCRADOS.	ÁREAS CEREBRALES INVOLUCRADAS.

ANSIEDAD	NA, 5HT, DA, GABA.	Núcleos motores (NAcc Core, CPu)
DEPRESIÓN	5HT, NA, DA.	CPF IL
ANHEDONIA	DA	Sistema límbico (NAcc Shell, Ínsula, Hipocampo).
CRAVING	Factores Neurotróficos: ERK, BDNF, GDNF. Receptores de Glutamato.	Sistema Mesolímbico Cortical (NAcc, mPFC, Cuerpo estriado, ABL).
BASES NEUROANATÓMICAS.		
Noradrenalina (NA)	Locus Coeruleus, Núcleos reticulares laterales con proyección a Corteza, Hipocampo, Amígdala, Septum, así como al Hipotálamo y Tálamo.	
Serotonina (5HT)	Sintetizada en los Núcleos del Rafé y proyectada a los Sistemas Nigroestriado, y Sistema Mesolímbico Cortical.	
Dopamina (DA)	Substantia Nigra, Núcleos Cuneiformes, Núcleo Rojo, Áreas Tegmentales y proyectado a Sistema nigroestriado, Meso Límbico Cortical, Tuberoinfundibular.	
Ácido Gamma Amino Butírico (GABA)	Sintetizado en Encéfalo, Cerebelo y proyectado a Núcleo interpeduncular y al Locus Níger.	

1.7 HIPÓTESIS QUE HAN EXPLICADO EL PROCESO DE ABSTINENCIA.

I. Teoría Clínica Trifásica (Gawin y Kleber, 1986).

Los síntomas de abstinencia a la cocaína siguen típicamente tres fases:

Fase 1: Crash. En esta etapa el episodio de abuso es completado. Al pasar el efecto de la última dosis, aparecen síntomas que desaparecen en 2 a 5 horas. Los síntomas son

descritos como disforia, depresión, anhedonia, insomnio, irritabilidad, ansiedad y confusión, acompañado de pensamientos suicidas y paranoides generalmente limitados a este periodo. La falta de sueño es seguida por 8 a 50 horas de somnolencia e incremento en el apetito. La duración total de esta primera fase, alcanza un máximo de 5 días. Dado que el deseo inicial por la droga desaparece espontáneamente, el objetivo del tratamiento de esta fase, se centra en la retención del adicto en el tratamiento hasta la extinción del craving experimentado en esta fase.

Fase 2: Withdrawal (Síndrome de Abstinencia Tardío). Caracterizado por uno a cinco días de función cercana a la normalidad, ciclos de sueño y despertar normalizado y mínimo deseo por consumir cocaína. A partir de entonces, la abstinencia progresa a un síndrome fluctuante que incluye anhedonia, disforia (de menor severidad a la experimentada en el crash) y fatiga. La ansiedad e irritabilidad son también frecuentes y se asocia un incremento del deseo por la droga, sensación de "aburrimiento" y falta de placer en cualquier actividad. Los síntomas continúan incluso más de 10 semanas, antes de su reducción espontánea.

El objetivo del tratamiento en esta fase, se centra en la reducción del deseo por la cocaína y los síntomas asociados, así como de la retención del paciente en abstinencia. Sin embargo, una de las mayores dificultades es la prolongada duración del síndrome de abstinencia y el incrementado deseo por la droga. En adictos en tratamiento la recurrencia al abuso de los estimulantes frecuentemente aparece en esta fase.

Fase 3: Extinción. Cuando se logra mantener la abstinencia durante las dos fases anteriores, se inicia una tercera fase caracterizada por un estado de humor normalizado, pero marcado por el deseo episódico por la droga (de menor severidad que en las dos primeras fases). Este deseo es usualmente precipitado por situaciones que traen al adicto el recuerdo del consumo de la droga (ver a amigos consumidores o pasar por lugares asociados al consumo). La recurrencia de este deseo por la sustancia aparece de forma crónica y a menudo indefinidamente y sugiere la necesidad

de soporte continuado del adicto en tratamiento, ya sea a través de visitas frecuentes a consulta o mediante grupos de soporte, con o sin medicamento coadyuvante.

TABLA 2: ETAPAS DEL PROCESO DE ABSTINENCIA SEGÚN GAWIN Y KLEBER.		
Fase 1: "Crash".	Fase 2: Abstinencia.	Fase 3: Extinción.
Dura de 9 horas a 5 días.	Duración de 1 a 10 semanas.	Duración indefinida (Meses e incluso años).
<p>Temprana (de 6 a 20 horas):</p> <ul style="list-style-type: none"> -Agitación. -Depresión. -Anorexia. -Intenso deseo de cocaína. <p>Media (de 6 a 20 horas):</p> <ul style="list-style-type: none"> -Fatiga. -Depresión. -Anhedonia. -Irritabilidad. -Cefaleas. -Mialgias difusas. -Insomnio con letargia. -No deseo de cocaína. 	<p>Temprana:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Normalización del ritmo de sueño. -Normalización del estado de ánimo (eutimia). -Baja ansiedad. -Bajo deseo de cocaína. <p>Media y tardía:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Disforia. -Anhedonia. -Anergia. -Incremento de ansiedad. -Irritabilidad. -Intenso deseo de cocaína. -Sucesos condicionantes que exacerban el deseo de cocaína. 	<ul style="list-style-type: none"> -Eutimia. -Respuesta hedónica normal. -Recuerdo de los efectos agradables de la cocaína. -Deseo periódico de cocaína en relación con estímulos condicionados.

<p>Tardía (de 3 a 5 días):</p> <ul style="list-style-type: none"> -Agotamiento físico. -Hipersomnias con despertar frecuente. -Intensas cefaleas. -Hiperfagia. -Nulo deseo de cocaína. 		
---	--	--

Teorías Neurobiológicas.

II. Teoría de los Procesos Oponentes (Solomon y Corbit, 1974).

Solomon y Corbit (1974) observaron que: a) Las reacciones emocionales intensas suelen ser bifásicas, es decir, durante la presencia de un estímulo ocurre una emoción y al terminar ocurre la emoción contraria, b) La reacción primaria se vuelve más débil al repetir la estimulación c) El debilitamiento de la reacción primaria con la exposición repetida, es acompañada por un fortalecimiento de la reacción posterior.

La habituación de esta reacción primaria es lo que dentro del campo de adicciones se conoce como tolerancia a la droga, razón por la que los usuarios habituales ya no disfrutan del efecto de la droga como los usuarios poco experimentados. La disminución de la respuesta primaria es acompañada de un incremento en la reacción posterior oponente, es decir, la resaca se vuelve mucho más severa.

La teoría del proceso oponente estipula los mecanismos neurofisiológicos involucrados en la conducta que permiten mantener la estabilidad emocional, entendiéndose como una teoría homeostática. La teoría dice que para el mantenimiento de un sistema en estado neutral (estado anímico normal), se requiere de la existencia de un proceso que contrarreste cualquier desplazamiento. Cuando se desequilibra al sistema alejándolo de la neutralidad, de forma consecuente, se desencadena un

proceso opoente que contrarresta el efecto, volviendo al sistema al estado de equilibrio inicial.

La presentación de un estímulo activador provoca el proceso primario o proceso a, responsable del estado emocional primario (euforia), al desequilibrar el sistema se desencadena un proceso opoente o proceso b, que genera la reacción emocional opuesta (disforia) (Figura 19). Las experiencias altamente reforzantes desencadenan el proceso opuesto con tanta fuerza que la angustia posterior es tan intensa, que lleva al individuo a buscar nuevamente la droga para salir de ese estado, sin embargo este acto provocará una angustia mayor tras la desaparición del efecto, convirtiéndose en un círculo vicioso que es intensificado paulatinamente (Barr, Markou y Phillips, 2002).

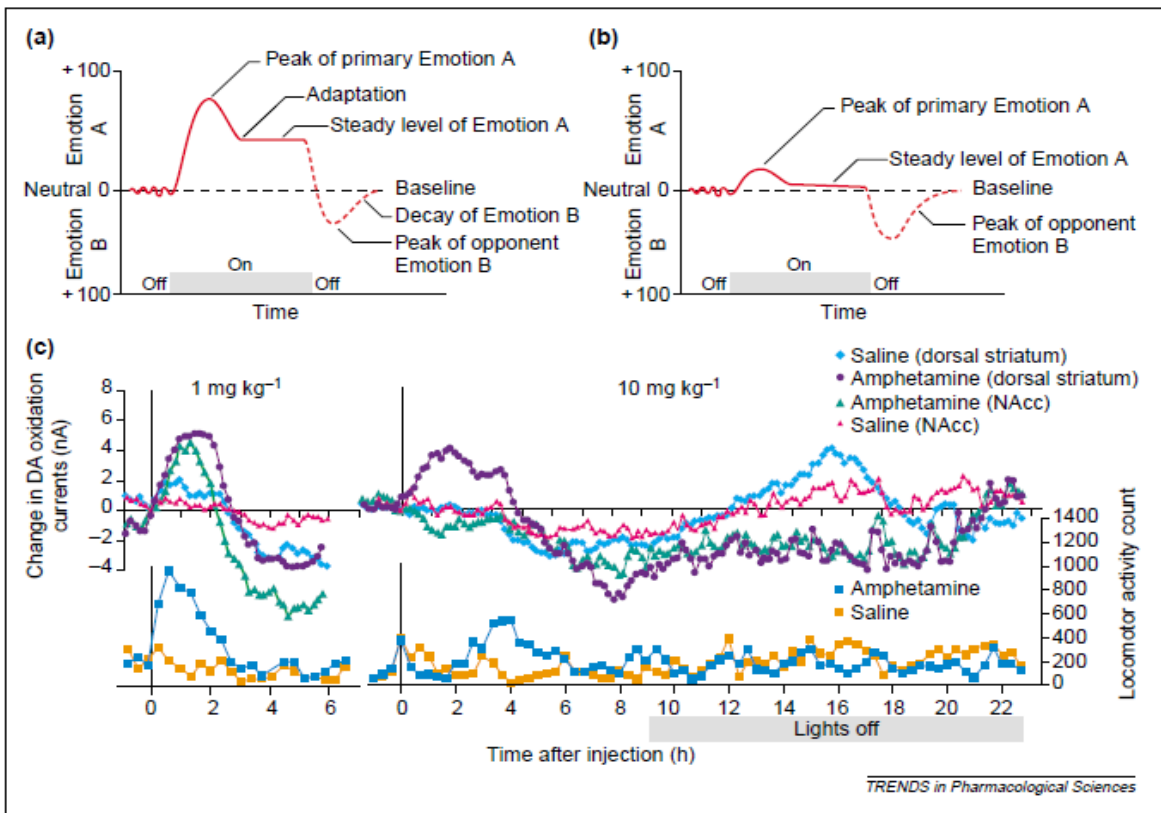


Figura 19: Explicación gráfica de los procesos opoentes, mediante la técnica de microdiálisis. Se observan los niveles basales de DA, así como los niveles de DA posteriores a un estímulo. Tomado de: (Barr, Markou y Phillips, 2002).

III. Neurobiología de la Incubación del Craving (Pickens y cols., 2011).

La recaída en el consumo de drogas en humanos, a menudo ocurre después de periodos de abstinencia prolongada (Hunt, Barnett y Branch, 1971) y es precipitada por la exposición a señales asociadas al consumo, lo que provoca "la apetencia por la droga o craving" (O'Brien, Childress, Mc Lelland, Ehrman, 1992). En un intento por explicar las recaídas persistentes fue postulada la hipótesis de que las señales asociadas a la droga incrementan progresivamente durante las primeras semanas de abstinencia y se mantienen altas durante largos periodos (Gawin y Kleber, 1986). Un fenómeno denominado "Incubación del Craving" (Grimm, Hope, Wise y Shaham, 2001) fue identificado en ratas basado en observaciones que dependientes del tiempo aumentan la búsqueda por la droga durante la abstinencia (Grimm y cols., 2001) (Neisewander y cols., 2000; Shalev, Morales, Hope, Yap y Shaham, 2001). En humanos el Craving no es únicamente inducido por señales asociadas a la droga, también lo desencadena la exposición a la droga en sí o a factores estresantes (Jaffe, Cascella, Kumor y Sherer, 1989; Sinha, Catapano y O'Malley, 1999). Algunos factores que influyen la magnitud de la incubación del craving en roedores incluyen la edad, condiciones de vivienda, ejercicio y hormonas sexuales. Los sistemas dopaminérgico mesolímbicocortical y nigroestriado, contribuyen en la búsqueda de la droga y otros comportamientos asociados a la misma (Shalev, Grimm y Shaham, 2002; Feltenstein y See, 2008; Belin, Jonkman, Dickinson, Robbins, Everitt, 2009).

Resultados de estudios previos sugieren que la CPF y NAcc tienen un papel fundamental en la incubación del Craving. Se sabe que la Amígdala Basolateral (ABL) está involucrada en la reconsolidación de memorias previamente asociadas con la autoadministración de la droga, sin embargo el grado en el cual contribuye en la Incubación del Craving permanece aún desconocido (Di Chiara, 2002; Pickens y cols., 2011).

II. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.

c-Fos, Cocaína Y Abstinencia.

Se sabe que el consumo de cocaína induce cambios en la expresión génica en neuronas del Sistema Mesolímbicocortical (factores de transcripción como Fos, JunB y Fra) lo que ha permitido determinar la participación de cada área del sistema de recompensa en el proceso adictivo y en la génesis de los signos y síntomas que caracterizan al periodo de abstinencia.

Larson y colaboradores (2010) examinaron la regulación de la familia Fos y sus factores de transcripción en Caudado-Putamen (CPu) y Núcleo Accumbens durante y después de la administración intravenosa aguda y crónica de cocaína. Reportaron que las proteínas Δ Fos B, FosB y c-Fos mostraron distintos patrones de expresión regional y temporal. Encontraron también una más alta acumulación de las proteínas Δ Fos B y Fos-B en el NAcc y CPu, después de la administración crónica (18 días). Sin embargo, no encontraron un patrón similar para proteína c-Fos, pues su expresión fue dependiente del consumo compulsivo de los sujetos de estudio (Larson y cols., 2010).

Por su parte, Todtenkopf, Mihalakopoulos y Stellar (2002) utilizando técnicas de histoquímica, evaluaron la expresión de la proteína c-Fos en neuronas del NAcc y CPF en ratas sensibilizadas a cocaína (15 mg/Kg) durante 5 días consecutivos y posteriormente sometidas a periodos de abstinencia de 2 y 14 días. Reportaron que la expresión del gen c-Fos a los 2 días de abstinencia mostró una disminución significativa en la densidad de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en la CPF y NAcc con respecto al número de neuronas inducidas por la administración de Solución Salina Isotónica (SSI) a los 14 días de abstinencia (Todtenkopf y cols., 2002).

Asimismo Harris, Hummel, Wimmer, Mague y Aston-Jones, (2007) reportaron el efecto de múltiples dosis de cocaína, durante 10 días y una posterior abstinencia forzada de 2, 3 o 5 semanas sobre la ABL y NAcc. Observaron que en el periodo de abstinencia más temprano (2-3 semanas) hubo elevación en la expresión de la proteína FosB en la ABL y en ambas regiones del NAcc. A la quinta semana de abstinencia,

observaron un aumento en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos en la región Shell del NAcc. Los hallazgos de este estudio resaltan la importancia del NAcc en los procesos hedónicos respaldando la idea de que posibles alteraciones en el funcionamiento de esta área pueden explicar la desregulación que conlleva a la sintomatología característica de la abstinencia que culmina en recaídas en el consumo de la droga (Harris y cols., 2007).

Recientemente Nic Dhonnchadha y colaboradores (2012) determinaron cambios en la expresión de la proteína c-Fos en 11 sitios cerebrales involucrados en el proceso de extinción a la auto-administración de cocaína. Encontraron un incremento en el número de neuronas inmunopositivas a la proteína Fos en la ABL, CPF, hipocampo y estriado a las dos semanas de abstinencia. Estos resultados sugieren que principalmente la ABL y la CPF participan activamente en los procesos de extinción de parámetros de aprendizaje emocional (Nic Dhonnchadha y cols., 2012).

Estos resultados correlacionaron con los obtenidos por Freeman y colaboradores (2008) quienes trabajaron con animales sometidos a un protocolo de auto-administración a cocaína con un posterior periodo de abstinencia de 1 a 100 días. Observaron los niveles de expresión de mRNA de algunos genes que se sabe son sensibles a cocaína, enfocándose en la CPF y NAcc. Encontraron que al primer día de abstinencia la expresión del mRNA para el gen c-Fos se encontraba disminuido. Posteriormente, al realizar el análisis a los 30 días de abstinencia la expresión de mRNA del gen c-Fos aumentaba significativamente con respecto a los 3 días persistiendo hasta los 100 días (Freeman y cols., 2008).

En conjunto, estos datos sugieren que durante la abstinencia ocurren cambios en la expresión génica y en la actividad neuronal dentro de algunas zonas del Sistema Mesolimbocortical que podrían ser la base de los síntomas negativos característicos de la abstinencia a la cocaína, siendo el factor desencadenante de múltiples procesos que promueven la recaída en el consumo de la droga en sujetos adictos.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

A nivel mundial el uso y abuso de drogas constituye uno de los mayores problemas de salud pública de nuestra época, con la agravante de que el sector poblacional más afectado, abarca individuos de ambos sexos, en plena edad productiva (18-54 años) convirtiéndose también en un problema económico, político y social (ENA, 2011; UNOCD World Drug Report, 2012).

Uno de los principales problemas que enfrentan los sujetos adictos son las constantes recaídas en el consumo de la droga. Se ha reportado, que durante periodos prolongados de abstinencia (Hunt y cols., 1971; Gawin y Kleber, 1986) se desarrolla en animales de laboratorio un fenómeno conocido como incubación del craving (O'Brien y cols., 1992; Grimm y cols., 2001) y propiamente el craving se presenta también en humanos este fenómeno está estrechamente relacionado con un aumento en la apetencia por la droga; adicionalmente estos periodos de abstinencia suelen acompañarse por episodios de ansiedad, depresión y anhedonia; los cuales junto con el Craving aumentan significativamente el deseo por consumir la droga. Se ha propuesto que estos estados en conjunto son la causa principal que lleva a sujeto adicto a recaer (El Hage y cols., 2012).

El consumo crónico de psicoestimulantes como la cocaína (Larson y cols., 2010), induce cambios en la expresión de algunos genes (Nestler, 2000; Nestler, 2005) particularmente genes de expresión temprana como son Fra, Jun y Fos. (Freeman y cols, 2008). Se ha reportado que durante la abstinencia, ocurren cambios en la expresión de la proteína Fos (Nic Dhonnchadha y cols, 2012). Sin embargo, pocos estudios evalúan periodos largos de abstinencia. Freeman reportó que durante un periodo de hasta 100 días de abstinencia forzada y observó un aumento gradual y sostenido en la expresión del mRNA del gen c-Fos (Freeman y cols, 2008).

A la fecha actual no existe un trabajo, que evalúe la actividad neuronal vista como el cambio en la expresión de la proteína Fos, dentro de las áreas del sistema de recompensa observado a lo largo de un periodo extendido de abstinencia.

HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Al suspender la administración de cocaína, se observará disminución en la expresión de la proteína c-Fos en las distintas áreas del Sistema Mesolímbicocortical de los animales experimentales sensibilizados a la droga y sometidos a distintos periodos de abstinencia.

IV. OBJETIVOS.

GENERAL:

✧ Caracterizar el perfil temporal de expresión de la proteína Fos, en áreas del sistema de recompensa a distintos periodos de abstinencia (de 1 a 90 días).

ESPECÍFICOS:

- ✧ Caracterizar la expresión de la proteína Fos en el VTA, en diferentes periodos de abstinencia (1, 5, 10, 30, 60 y 90 días).
- ✧ Caracterizar la expresión de la proteína Fos en las porciones Shell y Core del NAcc, en diferentes periodos de abstinencia (1, 5, 10, 30, 60 y 90 días).
- ✧ Caracterizar la expresión de la proteína Fos en la CPF Infralímbica (CPF IL), en diferentes periodos de abstinencia (1, 5, 10, 30, 60 y 90 días).
- ✧ Caracterizar la expresión de la proteína Fos en la ABL, en diferentes periodos de abstinencia (1, 5, 10, 30, 60 y 90 días).
- ✧ Caracterizar la expresión de la proteína Fos en el CPu, en diferentes periodos de abstinencia (1, 5, 10, 30, 60 y 90 días).

V. MATERIALES Y MÉTODOS EXPERIMENTALES.

5.1 Sujetos de Experimentación.

Se utilizó la especie Wistar de rata macho, con peso inicial de 250-300 g. Los animales fueron colocados en cajas de acrílico transparente, en un cuarto bajo condiciones controladas de temperatura y humedad (T: $21 \pm 2^\circ\text{C}$: H.R: 40 a 50%), en ciclo de luz-oscuridad 12:12 (encendido 7:00 AM). Con libre acceso a agua y alimento, excepto durante las sesiones experimentales. Los experimentos fueron realizados durante la fase de luz del ciclo luz-oscuridad (entre las 9:00 am y las 6:00 pm). Todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por el comité de ética y cuidado de animales del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

5.2 Sustancias.

El Clorhidrato de Cocaína fue donado por la Procuraduría General de la República; La sustancia fue disuelta en SSI Estéril (NaCl 0.9%) obteniéndose una solución stock cuya concentración era de 1 mg/mL. Esta misma fue utilizada para la realización del experimento administrándose en dosis de 10 mg/Kg a los animales de experimentación.

5.3 Evaluación de la actividad Locomotora.

Los efectos de la cocaína fueron evaluados de forma individual, en una caja de acrílico transparente (50x50x30 cm) acoplada a una computadora. Cada cámara de actividad estaba rodeada de un arreglo de 16X16 fotoceldas localizadas a 3 cm de la superficie, con el fin de registrar la actividad locomotora (OMNIALVA, Instruments, México). Las interrupciones de las fotoceldas, llevadas a cabo por los movimientos del animal, fueron cuantificadas automáticamente por un software OABiomed (V 1.1) y posteriormente analizadas. La actividad locomotora fue definida, como las interrupciones de fotoceldas consecutivas.

5.4 Procedimiento de Sensibilización Locomotora.

La sensibilización fue realizada de manera similar a otros autores (Haile, GrandPre y Kosten, 2001; Haile, Hiroi, Nestler y Kosten, 2001.). Los animales fueron habituados durante tres sesiones de 30 minutos en las cámaras de actividad antes de cada procedimiento experimental con el propósito de homogeneizar la actividad locomotora de los animales. Posteriormente, cada rata fue asignada de forma aleatoria a un grupo experimental. Todos los animales de los grupos experimentales recibieron el mismo tratamiento durante 15 días. En cada sesión experimental antes de registrar la actividad locomotora, cada animal del grupo fue administrado con cocaína (10 mg/Kg IP). Después de la administración la rata fue colocada dentro de la cámara de actividad. La actividad locomotora fue registrada por 30 minutos. Al concluir la sesión, las ratas fueron retiradas de las cámaras de prueba y colocadas en sus cajas de estancia.

5.5 Obtención y Preparación del Tejido.

Una vez terminado el periodo de sensibilización (15 días) los animales fueron sometidos a un periodo de abstinencia durante el cual recibieron la administración de SSI de forma continua a lo largo del número de días de abstinencia correspondiente al grupo experimental (1, 5, 10, 30, 60 y 90 días). En el último día de abstinencia 60 minutos después de la administración de SSI cada rata del grupo fue sacrificada mediante sobredosis de pentobarbital sódico (50 mg/kg) y sometido a un procedimiento estándar de perfusión transcardíaca con SSI 0.9%, seguido por una solución de Paraformaldehído al 4% en buffer de fosfatos. El cerebro de cada animal fue removido del espacio craneal, post-fijado por inmersión en Paraformaldehído al 4% y posteriormente crioprotegido en solución de sacarosa al 30 %.

Para la obtención de los cortes histológicos se congeló el cerebro -22°C y fue cortado en un criostato de congelación, obteniendo secciones coronales de 40µm mismas que fueron colectadas serialmente. Se escogieron cortes representativos que contuvieran las regiones de interés: Corteza Prefrontal Anterior (Corteza Infralímbica;

AP: Bregma 2.70 mm), Núcleo Accumbens en sus porciones Core (AP: Bregma 1.00) y Shell (AP: Bregma 1.00), Caudado- Putamen (AP: Bregma 1.60), Amígdala Basolateral (AP: Bregma -1.80) y Area Ventro-Tegmental (AP: Bregma -5.30). Sobre los cortes seleccionados se realizó la técnica de Inmunohistoquímica reactiva contra c-Fos.

5.6 Inmunohistoquímica (contra c-Fos).

El tejido cerebral seleccionado para la técnica se trató de la siguiente manera:

1. Se incubaron durante 15 minutos en solución acuosa de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 30% (esto con el fin de bloquear la actividad de la peroxidasa endógena).
2. Posterior a la incubación, se realizaron tres lavados de 10 minutos c/u en Solución Buffer Fosfato-Salino (PBS) 0.1 M pH 7.2 sobre placa oscilatoria.
3. Una vez terminados los lavados, los cortes fueron sumergidos durante 48 horas a 4°C en una solución del anticuerpo primario contra la proteína Fos (Conejo anti-Fos; Santa Cruz) a una dilución 1:1000 en PBS-GT*.
4. Posterior a la incubación, se realizaron tres lavados de 10 minutos c/u en solución de PBS 0.1 M pH 7.2, sobre placa oscilatoria.
5. Terminados los lavados, los cortes fueron sumergidos durante 2 horas a T.A en una solución del anticuerpo secundario biotinilado (Cabra anti-conejo; Jackson Immunoresearch) a una dilución 1:200 en PBS-GT*.
6. Posterior a la incubación, se realizaron tres lavados de 10 minutos c/u en solución de PBS 0.1 M pH 7.2, sobre placa oscilatoria para remover exceso de anticuerpo.
7. Terminados los lavados, los cortes fueron sumergidos durante 2 horas a T.A en una solución del complejo Avidina-Biotina-Peroxidasa [0.9 %, 0.9 %] (ABC, Vector Laboratories) en PBS-GT*.
8. Posterior a la incubación, se realizaron tres lavados de 10 minutos c/u en solución de PBS 0.1 M PH 7.2 sobre placa oscilatoria.

9. Finalmente, se hizo reaccionar el tejido tratado en una solución de Diaminobencidina (DAB) 25mg/25mL Trizma Buffer 7.2, H₂O₂ al 0.004%. Monitoreando constantemente hasta obtener un contraste adecuado entre la marca buscada y el fondo del tejido. La reacción fue detenida con PBS [0.1 M] PH 7.2.

*PBS-GT: (Tritón X-100 [6 % v/v], Suero Normal de cabra [1 % v/v]) / PBS [0.1 M] durante 48 horas a 4 °C.

Los cortes tratados se montaron en cubreobjetos gelatinizados; dejando secar a temperatura ambiente para posteriormente sellar con resina sintética (Entellan, Merck) y cubrir con cubreobjetos de vidrio No. 1.

5.7 Conteo Celular.

Para cuantificar la expresión de la proteína c-Fos en los núcleos neuronales, se escogieron cuatro secciones representativas de acuerdo al atlas esteroetáxico de Paxinos y Watson. Una primera sección la más anterior, contenía a la CPF IL (AP: Bregma 2.70mm). Una segunda sección contenía las porciones Core (AP: Bregma 1.00) y Shell (AP: Bregma 1.00) del NAcc y al CPu (AP: Bregma 1.60). Una tercera sección contenía a la ABL (AP: Bregma -1.80) y por último, la sección más posterior se utilizó para muestrear al VTA (AP: Bregma -5.30).

Las imágenes de las áreas se obtuvieron con un microscopio óptico de campo claro (Leica DM500) acoplado a un analizador de imágenes (Leica, Qwin versión 2.6.0) para la obtención de fotografías del tejido. Se utilizó una lente de aumento de 10X. Sobre las fotografías seleccionadas, se colocó una red de campos de 20 μm por 20 μm (400 μm²) todas las células inmunoreactivas a c-Fos encontradas dentro de uno de los campos (1 cuadrante = 400 μm²) fueron contadas de forma manual con ayuda del software. Para minimizar el número de falsos positivos se determinó el nivel de gris del fondo en cada imagen seleccionando al azar 10 puntos dentro del campo en regiones sin neuronas observables inmunoreactivas a c-Fos. De esta forma, al marcar una célula inmunopositiva a Fos el software registraba un valor de gris y solo las células que

tuviesen un valor dos veces por debajo del nivel de gris del fondo fueron consideradas para el conteo como marcas positivas; por el contrario las neuronas con un valor de gris por encima del valor umbral fueron excluidas del conteo.

5.8 Análisis Estadístico.

Los datos obtenidos del conteo celular se presentaron como la media aritmética \pm error estándar. Estos valores fueron graficados con el programa SIGMA PLOT v.10.0. Con el fin de determinar las diferencias en los resultados obtenidos, se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía seguido por una prueba post hoc Tukey. El nivel de significancia se ajustó a $p < 0.05$. Los análisis estadísticos fueron realizados con el Software Statistica versión 4.5 (StatSoft, 1993).

5.9 Diseño Experimental.

El experimento se realizó con 6 grupos experimentales de $n=6$ y 2 grupos control un control positivo (COC_{10d}) cuyos animales fueron administrados vía Intraperitoneal (IP) con cocaína 10 mg/Kg, durante 15 días y un control negativo (SAL) cuyos animales fueron administrados vía IP con SSI 0.9% durante 15 días. Los animales de los grupos experimentales (Abstinencia) fueron administrados vía IP con una dosis de cocaína de 10 mg/ Kg durante 15 días, una vez terminado el periodo de administración fueron sometidos a diferentes periodos de abstinencia: Grupo 1: 1 día (Ext_{1d}), Grupo 2: 5 días (Ext_{5d}), Grupo 3: 10 días (Ext_{10d}), Grupo 4: 30 días (Ext_{30d}), Grupo 5: 60 días (Ext_{60d}), Grupo 6: 90 días (Ext_{90d}). Al cumplirse el periodo de abstinencia, las ratas fueron sacrificadas mediante una sobredosis de pentobarbital sódico y se realizó la técnica de perfusión intracardiaca pasando SSI seguida de una solución de Paraformaldehído al 4% para la recuperación del tejido cerebral, posteriormente se realizó la técnica de inmunohistoquímica contra c-Fos. Por último se hizo el conteo celular y la fase final del experimento fue el análisis estadístico de los resultados.

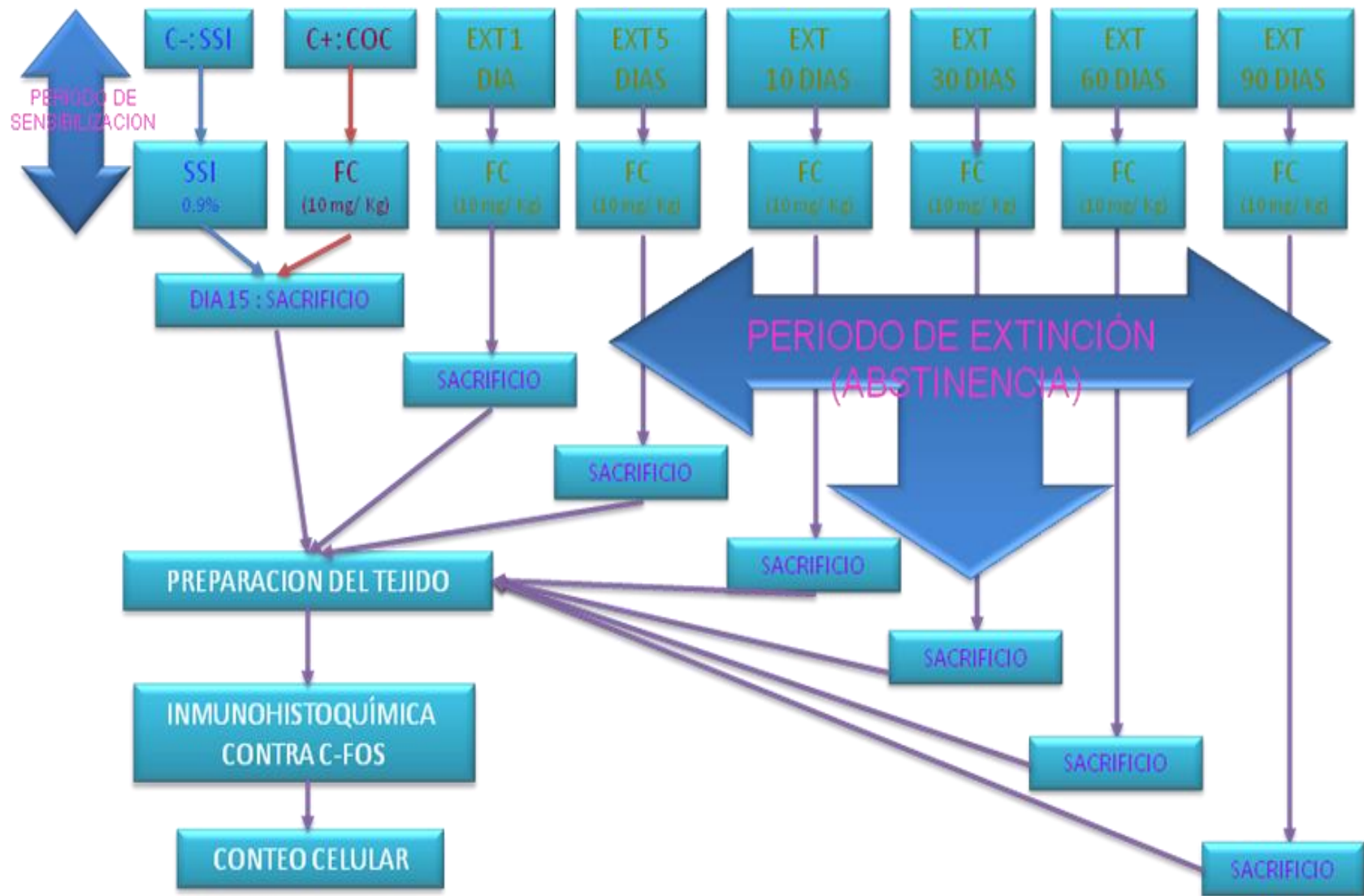


Figura 20: Diagrama Experimental del trabajo de caracterización del patrón de activación neuronal de sujetos adictos a cocaína en abstinencia.

VI. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

La administración de SSI a los animales del grupo control, indujo una expresión muy escasa de la proteína Fos en las regiones evaluadas. El número de neuronas inmunoreactivas bajo esta condición, refleja la activación neuronal basal generada por las condiciones de trabajo. Los resultados obtenidos de este grupo se muestran a continuación:

Tabla 3: Valor promedio del número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos contabilizadas por unidad de área (1 cuadrante de 400 μm^2) en los animales del grupo control salina.	
Área	(Media aritmética \pm error estándar)
VTA	3.75 \pm 0.40
NAcc Shell	9.25 \pm 0.83
NAcc Core	9.16 \pm 0.54
CPF IL	7.00 \pm 0.72
ABL	7.16 \pm 1.17
CPu	11.00 \pm 0.88
*n=6	

Previamente se reportó que la administración continua o intermitente de cocaína, induce un incremento gradual en la actividad motora, fenómeno conocido como sensibilización locomotora, también produce aumento significativo en el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos en distintas áreas del Sistema Mesolímbicocortical (Robinson y Berridge, 1993; Robinson y Berridge 2000; Vanderschuren y Pirce, 2010).

El incremento en la actividad locomotora durante la abstinencia, se ha interpretado como la conducta observada en episodios de ansiedad. Adicionalmente, en estudios de auto-administración de cocaína se ha reportado que durante la abstinencia la conducta de búsqueda de la droga, vista como el número de presiones a la palanca, aumenta gradualmente a este fenómeno se le ha denominado incubación de craving hecho que ha sido observado también en humanos adictos (Pickens y cols., 2011).

Esto sugiere que la actividad neuronal en algunas áreas del Sistema Mesolímbicocortical, debe mostrar un nivel de actividad alto. Sin embargo, algunas referencias indican que la actividad neuronal esta disminuida en diferentes áreas del SNC de animales sometidos a programas de abstinencia a cocaína. Estos trabajos, refieren principalmente el análisis de sólo algunas regiones del sistema de recompensa como el NAcc o la CPF y únicamente en periodos cortos de abstinencia (Todtenkopf y cols., 2002). Lo que dificulta la correlación entre el incremento en la actividad locomotora y la activación de neuronas en áreas del Sistema Mesolímbicocortical.

En este trabajo reportamos el análisis inmunohistoquímico de la actividad neuronal observada en las principales áreas del sistema de recompensa a lo largo de un periodo comprendido desde 1 hasta 90 días de abstinencia a cocaína.

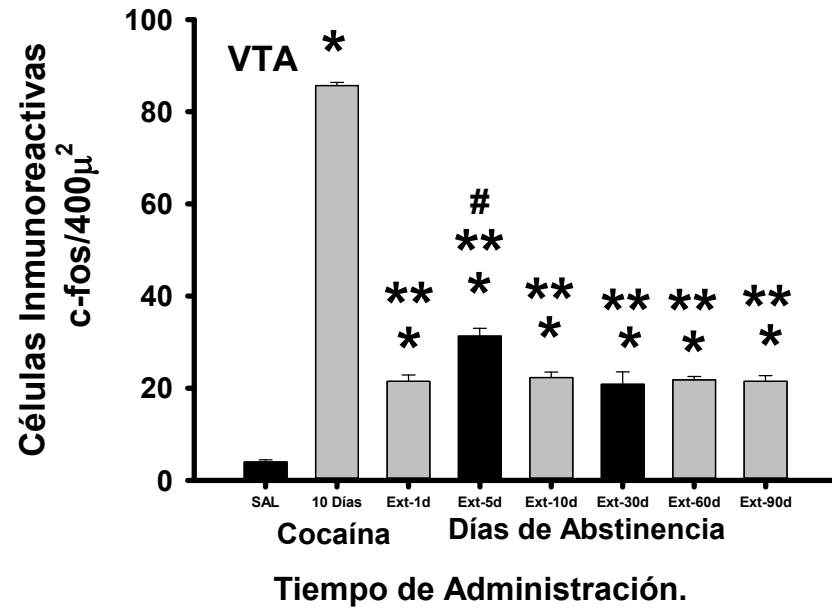
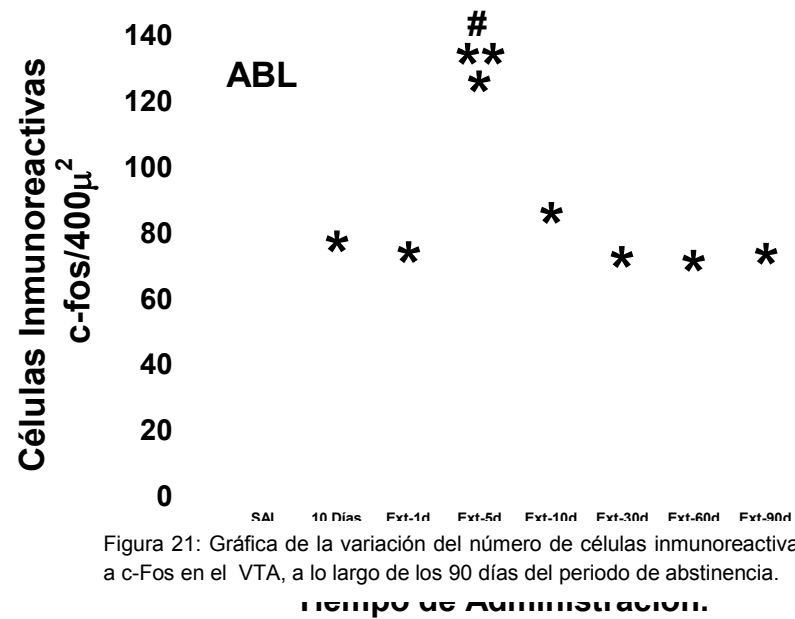
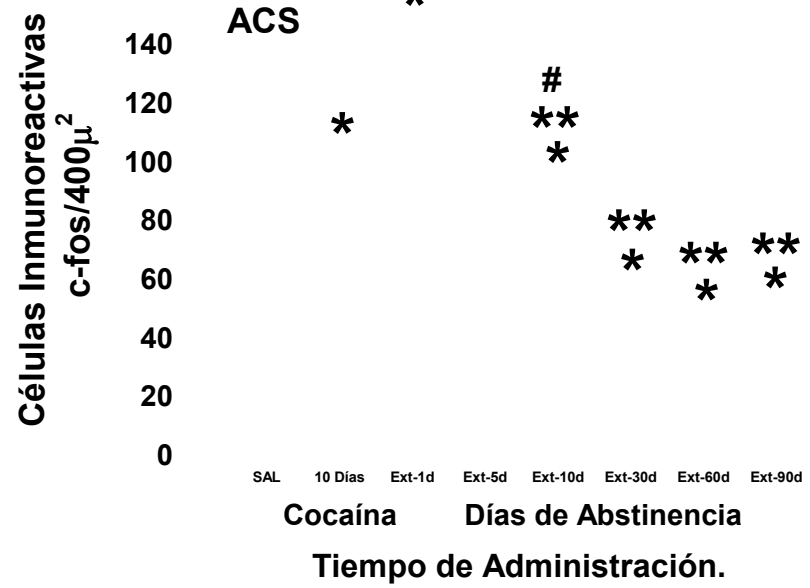
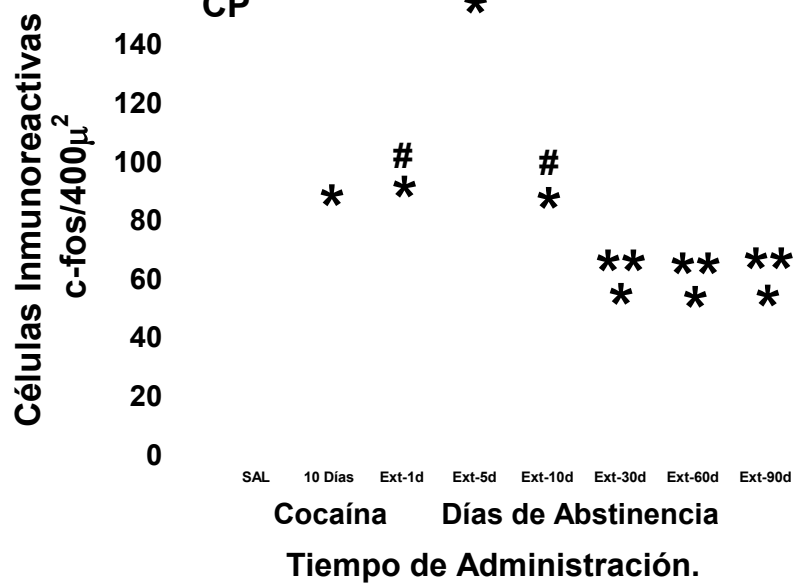


Figura 21: Gráfica de la variación del número de células inmunoreactivas a c-Fos en el VTA, a lo largo de los 90 días del periodo de abstinencia.

En el VTA se observó que a partir del primer día de abstinencia hay una disminución significativa en el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos, este número es similar entre los diferentes tiempos de abstinencia analizados y es más alto que el número de células que expresan a la proteína Fos, inducidas por la administración de solución salina estéril.

La ANOVA de una vía demostró diferencias significativas entre los grupos (Grupos F= (7,43) 145.95, $p < 0.0001$).

La prueba post hoc, demostró diferencias significativas entre el número de neuronas positivas a la proteína Fos, mostradas por los animales del grupo control positivo COC10d, con respecto al número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos mostradas por los grupos de extinción.

- ✓ Ext1d (COC10d=85.67 \pm 0.70 Vs Ext1d =21.50 \pm 0.35; Tukey $p < 0.0001$),
- ✓ Ext5d (COC10d=85.67 \pm 0.70 Vs. Ext5d=31.33 \pm 0.69; Tukey $p < 0.0001$),
- ✓ Ext10d (COC10d=85.67 \pm 0.70 Vs. Ext10d=22.33 \pm 0.16; Tukey $p < 0.0001$),
- ✓ Ext30d (COC10d=85.67 \pm 0.70 Vs. Ext30d=20.83 \pm 0.73; Tukey $p < 0.0001$),
- ✓ Ext60d (COC10d=85.67 \pm 0.70 Vs. Ext60d=21.83 \pm 0.70; Tukey $p < 0.0001$) y
- ✓ Ext90d (COC10d=85.67 \pm 0.70 Vs. Ext90d=21.50 \pm 0.67; Tukey $p < 0.0001$).

La misma prueba demostró diferencias significativas entre el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos entre el grupo salina y los grupos:

- ✓ COC10d (SAL=3.75 \pm 0.40 Vs. COC10d=85.67 \pm 0.70; Tukey Test $p < 0.0001$),
- ✓ Ext1d (SAL=3.75 \pm 0.40 Vs. Ext1d=21.50 \pm 0.35; Tukey Test $p < 0.0001$),
- ✓ Ext5d (SAL=3.75 \pm 0.40 Vs. Ext5d=31.33 \pm 0.69; Tukey Test $p < 0.0001$),
- ✓ Ext10d (SAL=3.75 \pm 0.40 Vs. Ext10d=22.33 \pm 0.16; Tukey Test $p < 0.0001$),
- ✓ Ext30d (SAL=3.75 \pm 0.40 Vs. Ext30d=20.83 \pm 0.73; Tukey Test $p < 0.0001$),
- ✓ Ext60d (SAL=3.75 \pm 0.40 Vs. Ext60d=21.83 \pm 0.70; Tukey Test $p < 0.0001$) y

✓ Ext90d (SAL=3.75 ± 0.40 Vs. Ext90d=21.50 ± 0.67; Tukey Test p<0.0001).

Además, la prueba post hoc no demostró diferencias significativas (Tukey Test NS p=1) entre los grupos Ext1d=(21.50 ± 0.35), Ext5d=(31.33 ± 0.69), Ext10d=(22.33 ± 0.16), Ext30d=(20.83 ± 0.73), Ext60d=(21.83 ± 0.70) y Ext90d=(21.50 ± 0.67).

Esto sugiere que las neuronas localizadas en el VTA mantienen un nivel de actividad superior a la basal de células de cerebros de animales no estimulados por cocaína. Este aumento en la actividad neuronal del VTA podría ser generado por proyecciones provenientes de dos áreas de particular importancia durante el proceso de abstinencia como la CPF (de tipo glutamatérgico) y la ABL (Vía Dopaminérgica).

6.2 Núcleo Accumbens Shell.

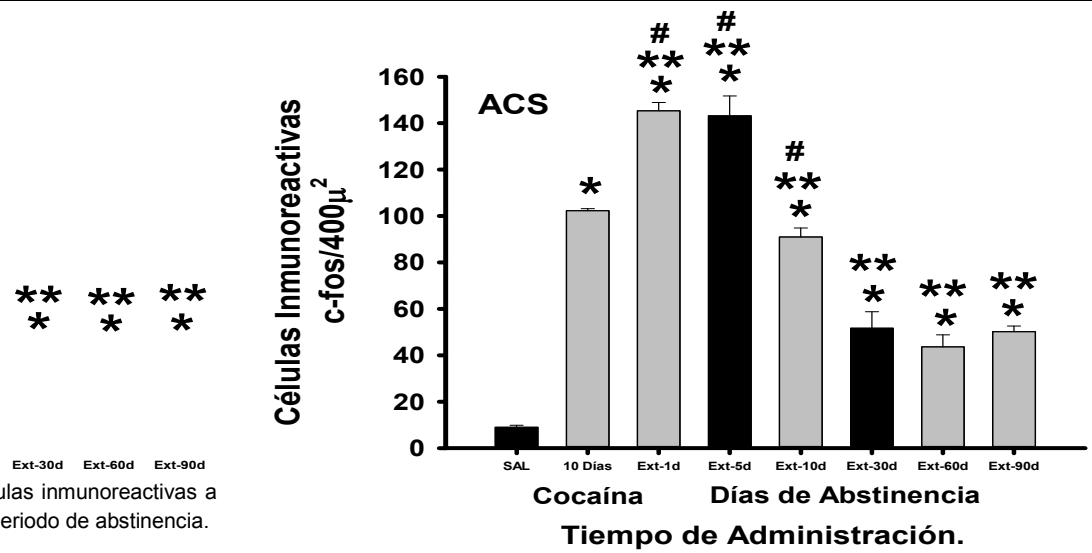
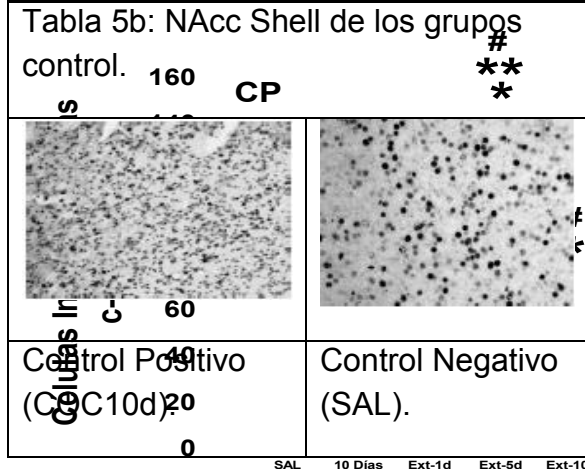
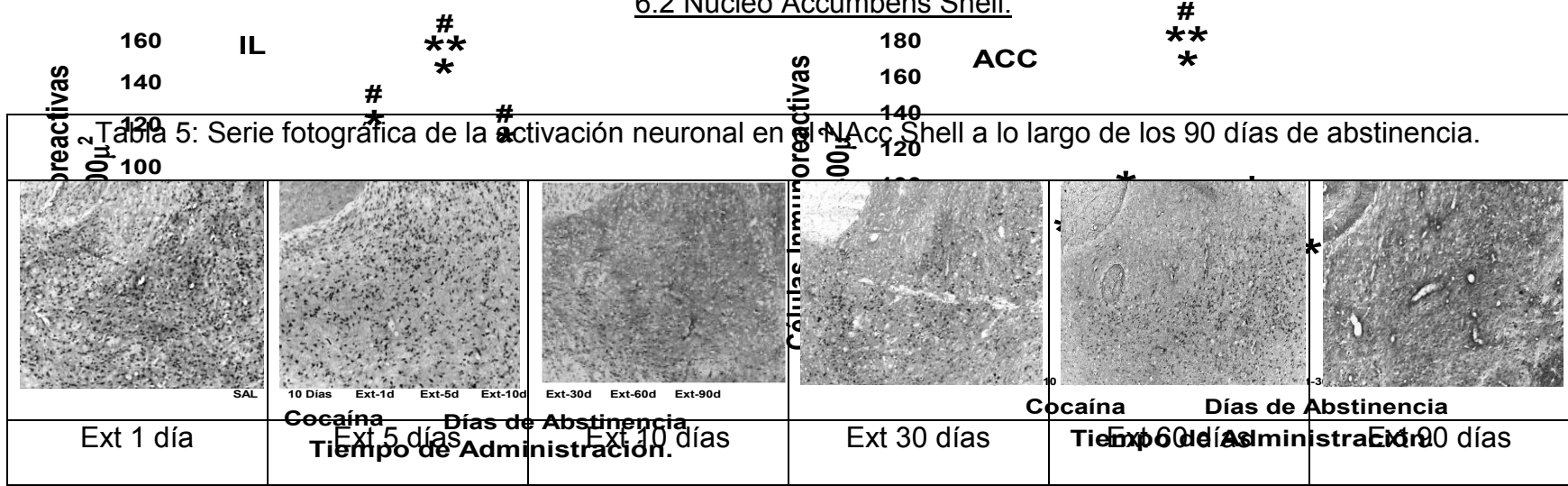
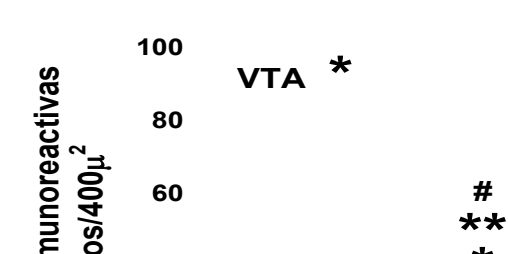
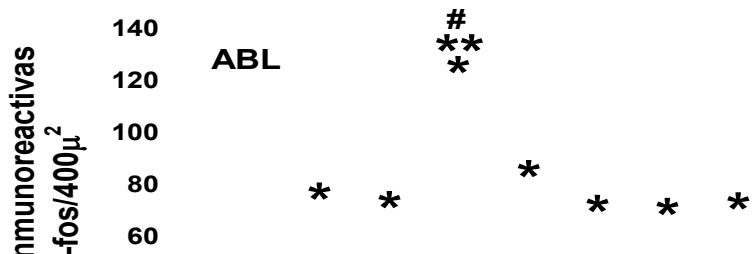


Figura 22: Gráfica de la variación del número de células inmunoreactivas a c-Fos en el NAcc Shell, a lo largo de los 90 días del periodo de abstinencia.



La administración continua de cocaína induce un aumento gradual en el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos en el NAcc Shell. Interesantemente, en el primero y quinto día de abstinencia el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos incremento rápidamente. A partir del décimo día de abstinencia, el número de células inmunopositivas a Fos disminuyó gradualmente. Estableciéndose el número de células activadas en el NAcc Shell a partir de los 30 días de abstinencia.

La ANOVA de una vía demostró diferencias significativas entre los grupos experimentales ($F = (7,43) 48.71 p < 0.0001$).

La prueba de Tukey encontró diferencias significativas en el número de neuronas positivas a Fos mostradas por el grupo control COC10d, con respecto a los grupos experimentales sometidos a diferentes periodos de abstinencia:

- ✓ Ext1d (COC10d=102.33 ± 0.85 Vs. Ext1d=45.33 ± 3.56; Tukey $p < 0.0001$;
- ✓ Ext5d (COC10d=102.33 ± 0.85 Vs. Ext5d=143.17 ± 8.56; Tukey $p < 0.0001$;
- ✓ Ext10d (COC10d=102.33 ± 0.85 Vs. Ext10d=91.00 ± 3.85; Tukey $p < 0.0001$;
- ✓ Ext30d (COC10d=102.33 ± 0.85 Vs. 51.67 ± 7.12; Ext30d=Tukey $p < 0.0001$;
- ✓ Ext60d (COC10d=102.33 ± 0.85 Vs. 43.67 ± 5.11; Ext60d=Tukey $p < 0.0001$ y
- ✓ Ext90d (COC10d=102.33 ± 0.85 Vs. 50.17 ± 2.42; Ext90d=Tukey $p < 0.0001$).

Además, la prueba post hoc demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos con respecto al grupo salina en la porción Shell del Núcleo Accumbens, entre los grupos:

- ✓ COC10d (SAL=9.16 ± 0.54 Vs. COC10d=102.33 ± 0.85; Tukey Test $p < 0.0001$),
- ✓ Ext1d (SAL=9.16 ± 0.54 Vs. Ext1d=145.33 ± 3.56; Tukey Test $p < 0.0001$),
- ✓ Ext5d (SAL=9.16 ± 0.54 Vs. Ext5d=143.17 ± 8.56; Tukey Test $p < 0.0001$),
- ✓ Ext10d (SAL=9.16 ± 0.54 Vs. Ext10d=91.00 ± 3.85; Tukey Test $p < 0.0001$),
- ✓ Ext30d (SAL=9.16 ± 0.54 Vs. Ext30d=51.67 ± 7.12; Tukey Test $p < 0.0001$),

- ✓ Ext60d (SAL=9.16 ± 0.54 Vs. Ext60d=43.67 ± 5.11; Tukey Test p<0.0001) y
- ✓ Ext90d (SAL=9.16 ± 0.54 Vs. Ext90d=50.17 ± 2.42; Tukey Test p<0.0001).

Adicionalmente, la prueba post hoc demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunopositivas a Fos mostrada por los grupos Ext1d=(145.33 ± 3.56) y Ext5d=(143.17 ± 8.56), con respecto a la exhibida por los grupos Ext10d=(91.00 ± 3.85; Tukey p< 0.0001), Ext30d=(51.67 ± 7.12; Tukey test p< 0.0001), Ext60d=(43.67 ± 5.11; Tukey Test p<0.0001) y Ext90d=(50.17 ± 2.42; Tukey Test p<0.0001).

También demostró diferencias en el número de neuronas activadas mostradas por el grupo Ext=10-d (91.00 ± 3.85), con respecto a las mostradas por los grupos Ext30d (51.67 ± 7.12; Tukey p< 0.0001), Ext60d (43.67 ± 5.11; Tukey Test p<0.0001) y Ext90d (50.17 ± 2.42; Tukey Test p<0.0001).

Finalmente la prueba de Tukey NO demostró diferencias significativas (Tukey Test NS p=1) en el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos, entre los grupos Ext30d=(51.67 ± 7.12), Ext60d=(43.67 ± 5.11) y Ext90d=(50.17 ± 2.42).

Dado que en el NAcc Shell se lleva a cabo la integración del valor de importancia (saliencia) que el sujeto le asigna a la droga y conforme este valor sea modificado la motivación a buscar y consumir a la droga también va a cambiar, los resultados obtenidos de los animales experimentales, sugieren que en los primeros días de abstinencia la motivación por buscar la droga aumenta significativamente y paulatinamente disminuye hasta establecerse a partir de los 30 días reflejando un posible establecimiento del Craving.

6.3 Núcleo Accumbens Core.

Tabla 6: Serie fotográfica de la activación neuronal en el NAcc Core a lo largo de los 90 días de abstinencia.

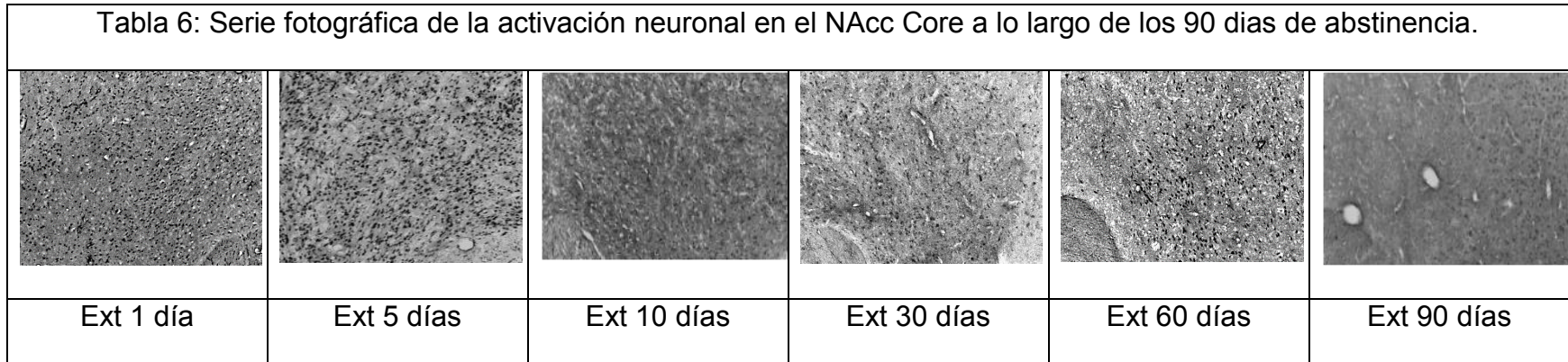


Tabla 6b: NAcc Core de los grupos control.

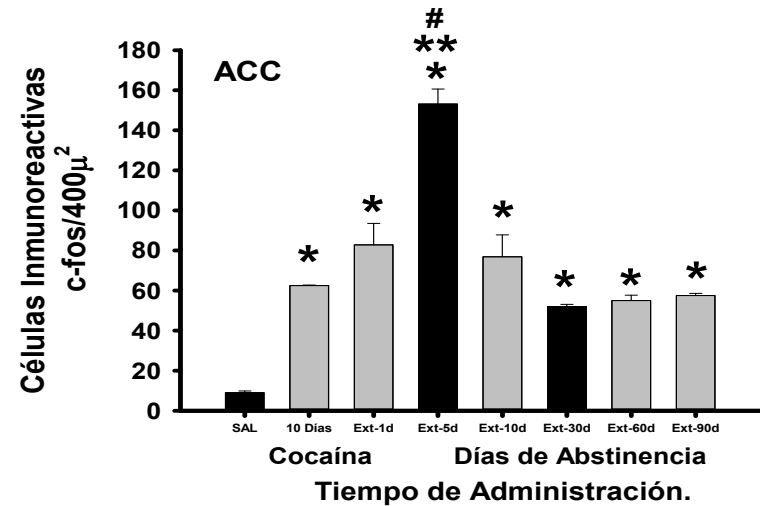
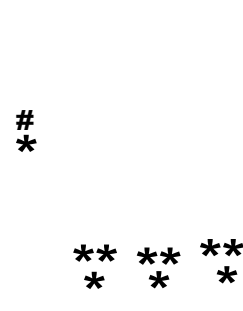
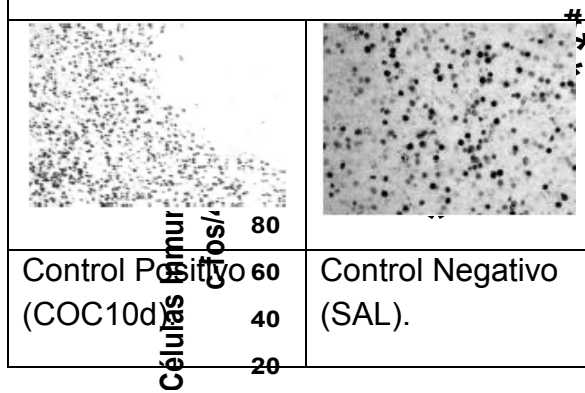
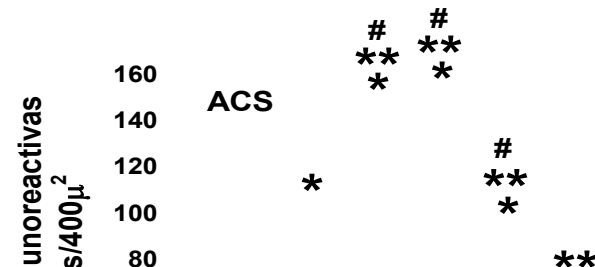
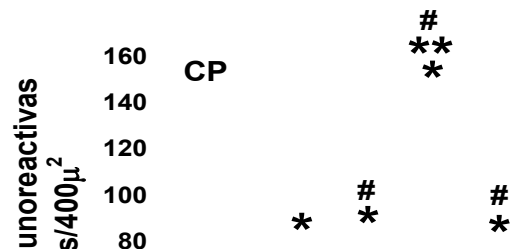


Figura 23: Gráfica de la variación del número de células inmunoreactivas a c-Fos en el NAcc Core, a lo largo de los 90 días del periodo de abstinencia.

Tiempo de Administración.



En lo que respecta al NAcc Core la administración continua de cocaína induce un aumento en la expresión de la proteína Fos. Al someter a los animales a una etapa de abstinencia durante primeros 5 días de abstinencia se observa un aumento gradual en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos, alcanzando su nivel máximo de expresión a los 5 días de abstinencia. A partir de los 10 días de abstinencia el número de neuronas inmunopositivas disminuye. El número de neuronas inmunoreactivas es similar a partir de los 30 días.

La ANOVA de una vía encontró diferencias significativas entre los Grupos ($F=(7,43) 22.85, p<0.00001$).

Interesantemente, para el NAcc Core la prueba de Tukey solo demostró diferencias significativas en el número de neuronas positivas a Fos mostradas por el grupo COC10d con respecto al número de neuronas positivas mostrada por el grupo:

- ✓ Ext5d (COC10d=62.50 ± 0.22 Vs. Ext5d=153.17 ± 7.45; Tukey test $p< 0.0001$).

La prueba post-hoc NO demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos, en los 5 grupos experimentales restantes:

- ✓ Ext1d (COC10d=62.50 ± 0.22 Vs. 82.83 ± 10.72; Tukey Test NS $p=0.77$);
- ✓ Ext10d (COC10d=62.50 ± 0.22 Vs. 76.83 ± 11.01; Tukey Test NS $p=0.95$);
- ✓ Ext30d (COC10d=62.50 ± 0.22 Vs. 52.00 ± 1.08; Tukey Test NS $p=0.98$);
- ✓ Ext60d (COC10d=62.50 ± 0.22 Vs. 55.00 ± 2.67; Tukey Test NS $p=0.82$) y
- ✓ Ext90d (COC10d=62.50 ± 0.22 Vs. 57.50 ± 1.06; Tukey Test NS $p=0.95$).

Adicionalmente, la prueba post hoc demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos, entre los grupos salina y

- ✓ COC10d (SAL=9.25 ± 0.76 Vs. COC10d=62.50 ± 0.22; Tukey Test $p<0.0002$),
- ✓ Ext1d (SAL=9.25 ± 0.76 Vs. Ext1d=82.83 ± 10.72; Tukey Test $p<0.0002$),
- ✓ Ext5d (SAL=9.25 ± 0.76 Vs. Ext5d=153.17 ± 7.45; Tukey Test $p<0.0001$),

- ✓ Ext10d (SAL=9.25 ± 0.76 Vs. Ext10d=76.83 ± 11.01; Tukey Test p<0.0005),
- ✓ Ext30d (SAL=9.25 ± 0.76 Vs. Ext30d=52.00 ± 1.08; Tukey Test p<0.0006),
- ✓ Ext60d (SAL=9.25 ± 0.76 Vs. Ext60d=55.00 ± 2.67; Tukey Test p<0.0004) y
- ✓ Ext90d (SAL=9.25 ± 0.76 Vs. Ext90d=57.50 ± 1.06; Tukey Test p<0.0001).

Además la prueba post-hoc solo demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos, mostradas por el grupo Ext5d con respecto a los grupos Ext1d=(Tukey Test p<0.0001), Ext10d=(Tukey Test p<0.0001), Ext30d=(Tukey Test p<0.0001), Ext60d=(Tukey Test p<0.0001) y Ext90d=(Tukey Test p<0.0001).

Esta misma prueba NO demostró diferencias en el número de neuronas inmunopositivas entre los grupos Ext1d (Tukey Test NS p=0.98), Ext10d (Tukey Test NS p=1), Ext30d (Tukey Test NS p=0.68), Ext60d (Tukey Test NS p=0.48) y Ext90d (Tukey Test NS p=0.38).

El NAcc Core participa en la regulación de la actividad locomotora motivada o dirigida a la búsqueda y consumo de la droga. El hecho que no se encuentre diferencia en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos, entre los grupos sometidos a diferentes periodos de abstinencia y el grupo tratado con cocaína, sugiere que los animales en abstinencia muestran un aumento significativo en la actividad locomotora, probablemente debido a episodios de ansiedad o al mismo desarrollo y establecimiento del craving.

6.4 Corteza Prefrontal Infralímbica.

Tabla 7: Serie fotográfica de la activación neuronal en la CPF IL a lo largo de los 90 días de abstinencia.

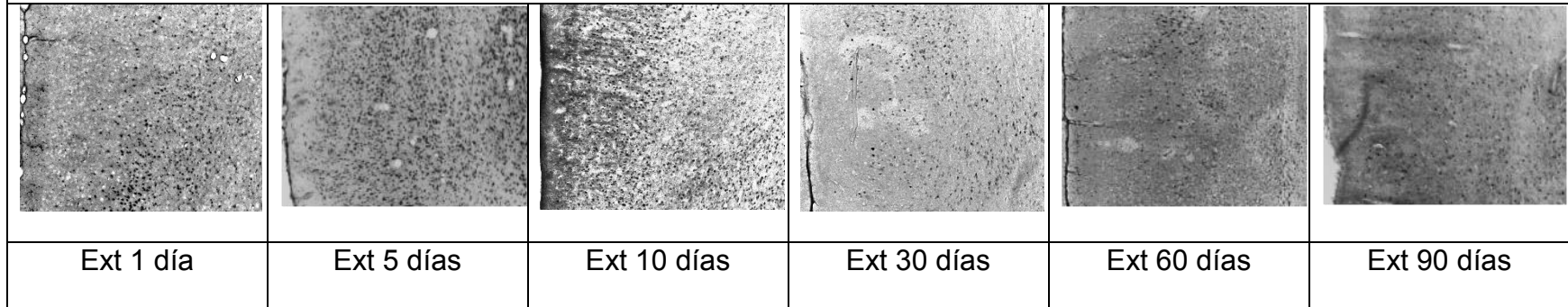


Tabla 7b: CPF IL de los grupos control.

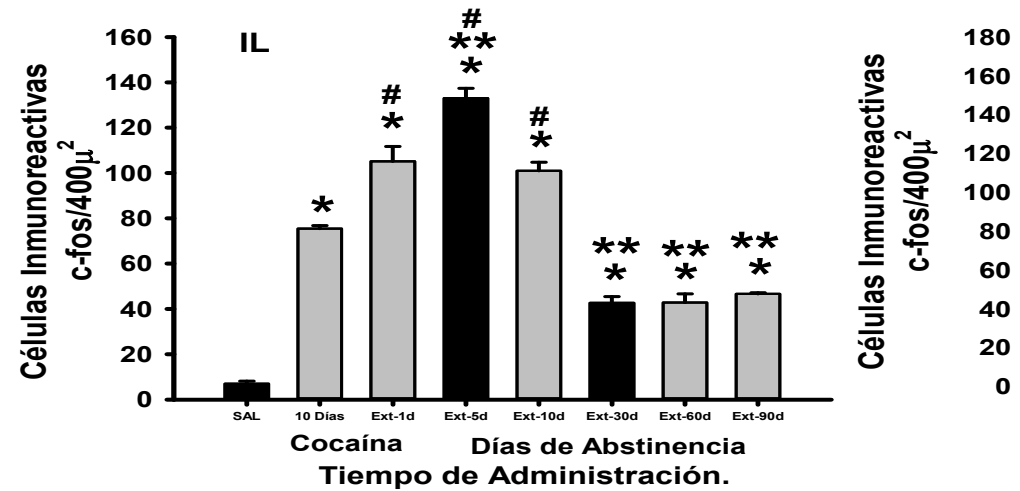
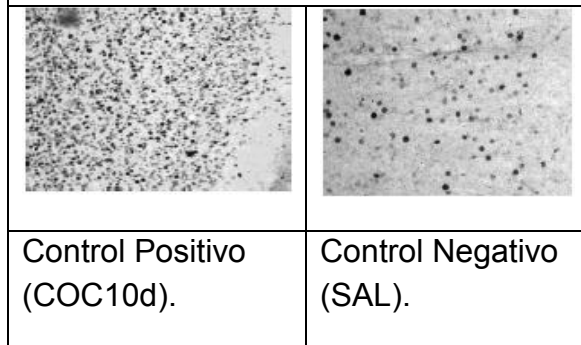
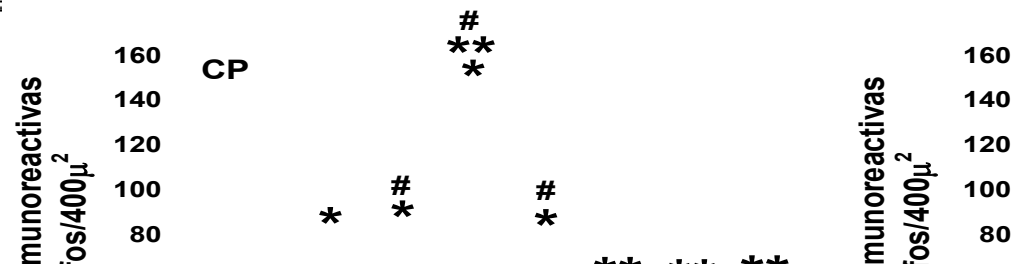


Figura 24: Gráfica de la variación del número de células inmunoreactivas a c-Fos en la CPF IL, a lo largo de los 90 días del periodo de abstinencia.



Con respecto a la IL se observó que la administración de cocaína provocó un incremento en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos. A partir del primer día de abstinencia, se observó un aumento gradual en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos, alcanzando su nivel máximo a los 5 días. A partir del décimo día de abstinencia, el número de neuronas activadas disminuyó gradualmente y no es hasta los 30 días de abstinencia que el número de neuronas se mantiene en un nivel constante que se sostiene hasta los 90 días de abstinencia.

La ANOVA de una vía demostró diferencias significativas entre los tratamientos Grupos $F = (7,43) 42.52$, $p < 0.0001$).

La prueba de Tukey demostró diferencias significativas en el número de neuronas positivas a Fos mostradas por el grupo COC10d, con respecto al número de neuronas positivas mostrada por los grupos:

- ✓ Ext5d (COC10d= 75.44 ± 1.39 Vs. Ext5d= 133.00 ± 9.35 ; Tukey test $p < 0.0001$),
- ✓ Ext30d (COC10d= 75.44 ± 1.39 Vs. Ext30d= 42.67 ± 2.82 ; Tukey test $p < 0.0002$);
- ✓ Ext60d (COC10d= 75.44 ± 1.39 Vs. Ext60d= 42.83 ± 2.83 ; Tukey test $p < 0.0003$)
y
- ✓ Ext90d (COC10d= 75.44 ± 1.39 Vs. Ext90d= 46.67 ± 0.52 ; Tukey test $p < 0.0001$).

Sin embargo, la prueba post-hoc NO demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas respecto a los grupos:

- ✓ Ext1d (COC10d= 75.44 ± 1.39 Vs. 105.17 ± 9.19 ; Tukey Test NS $p = 0.31$) y
- ✓ Ext10d (COC10d= 75.44 ± 1.39 Vs. 101.00 ± 3.72 ; Tukey Test NS $p = 0.48$).

Adicionalmente, la prueba post hoc demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos, entre los grupos salina y

- ✓ COC10d (SAL= 6.50 ± 0.67 Vs. COC10d= 75.44 ± 1.39 ; Tukey Test $p < 0.001$),
- ✓ Ext1d (SAL= 6.50 ± 0.67 Vs. Ext1d= 105.17 ± 9.19 ; Tukey Test $p < 0.004$),
- ✓ Ext5d (SAL= 6.50 ± 0.67 Vs. Ext5d= 133.00 ± 9.35 ; Tukey Test $p < 0.0001$),

- ✓ Ext10d (SAL=6.50± 0.67 Vs. Ext10d=101.00 ± 3.72; Tukey Test p<0.001),
- ✓ Ext30d (SAL=6.50± 0.67 Vs. Ext30d=42.67 ± 2.82; Tukey Test p<0.0004),
- ✓ Ext60d (SAL=6.50± 0.67 Vs. Ext60d=42.83 ± 2.83; Tukey Test p<0.0002) y
- ✓ Ext90d (SAL=6.50± 0.67 Vs. Ext90d=46.67 ± 0.52; Tukey Test p<0.0001).

Adicionalmente la prueba de Tukey demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos, mostradas por el grupo Ext5d con respecto al número de neuronas inmunopositivas mostradas por los grupos Ext1d (Tukey Test p<0.0002), Ext10d (Tukey Test p<0.0001), Ext30d (Tukey Test p<0.0001), Ext60d (Tukey Test p<0.0001) y Ext90d (Tukey Test p<0.0004).

Además demostró diferencias significativas entre los grupos Ext1d (Tukey Test NS p=0.31) y Ext10d (Tukey Test NS p=0.29); y entre los grupos Ext30d (Tukey Test NS p=0.68), Ext60d (Tukey Test NS p=0.90) y Ext90d (Tukey Test NS p=0.30).

Esto sugiere que el animal se mantiene de forma permanente en un estado de inquietud, probablemente asociado a una alta apetencia por la droga y podría verse reflejado en una conducta compulsiva de búsqueda, sobre todo durante los primeros días de abstinencia, después de este tiempo el comportamiento disminuye sin regresar a la basal por lo que puede pensarse que el sujeto sigue manteniendo presente el deseo por la droga.

En este punto puede pensarse, que las proyecciones provenientes del complejo amigdalino siguen afectando la función de la corteza infralímbica manteniendo al sujeto en un estado de inquietud incluso mayor a la observada en los animales del grupo al cual se le administro cocaína, a partir de los 30 días se observa una disminución de la actividad probablemente debido a un estado anímico depresivo y anhedónico.

6.5 Amígdala Basolateral.

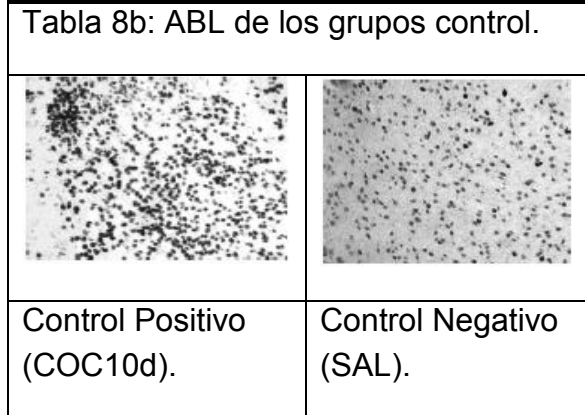
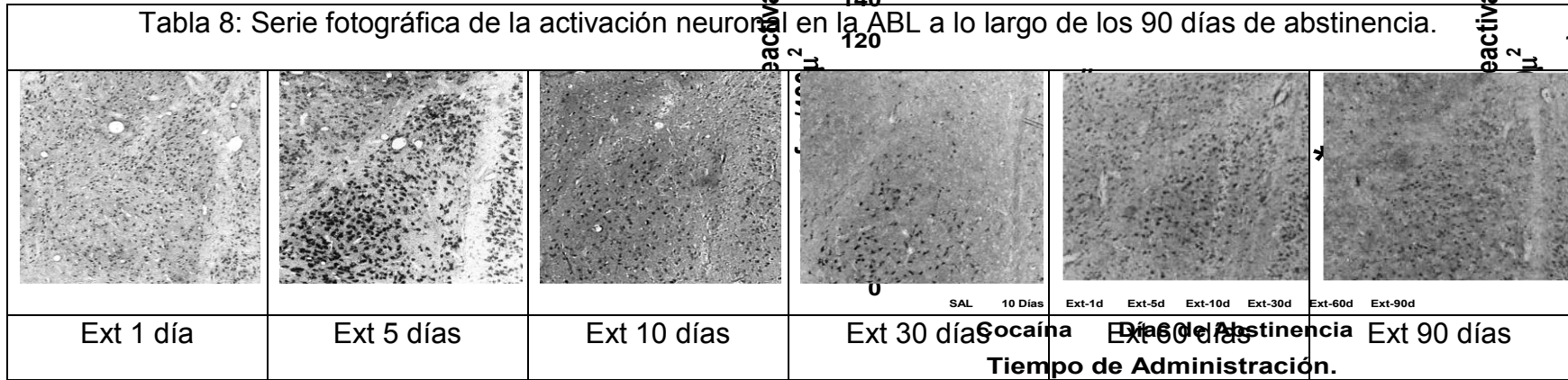
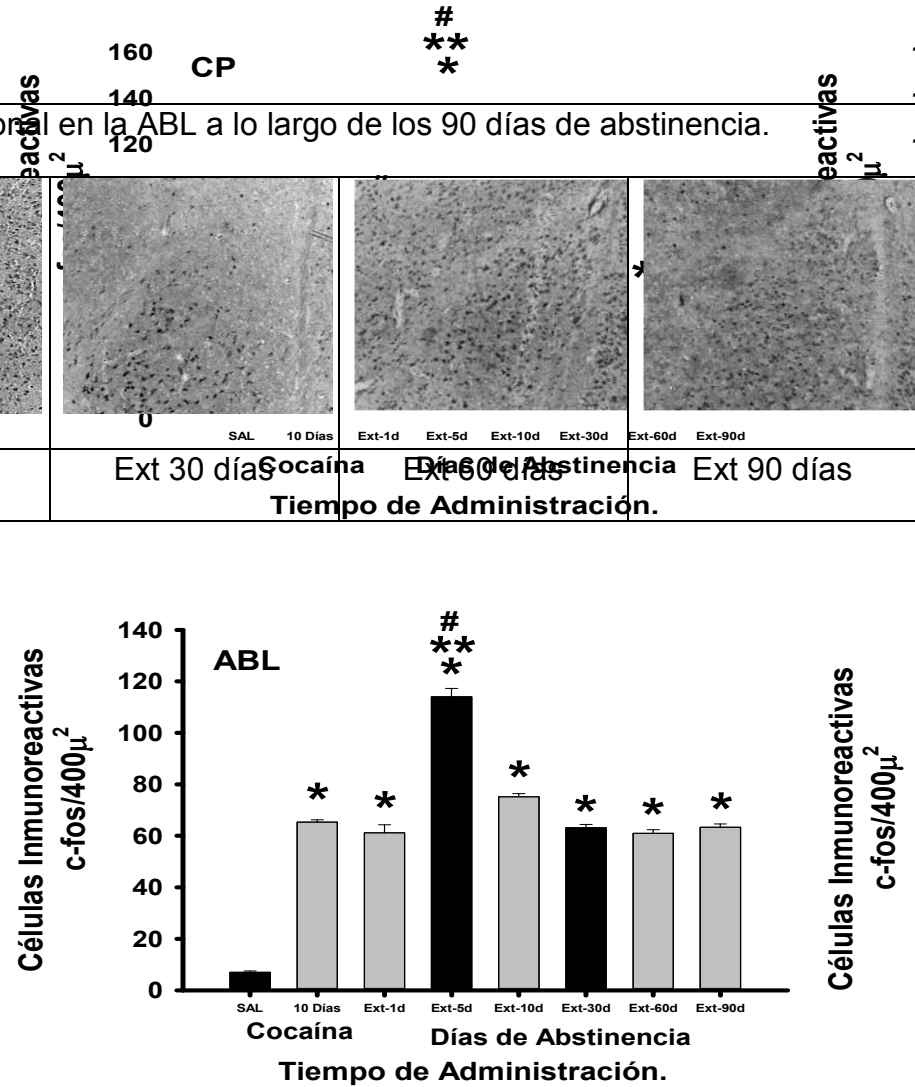


Figura 25: Gráfica de la variación del número de células inmunoreactivas a c-Fos en la ABL, a lo largo de los 90 días del periodo de abstinencia.



Con respecto a la ABL la administración continua de cocaína induce un aumento gradual en el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos. En el caso de los animales sometidos a abstinencia el número de neuronas inmunoreactivas a Fos aumenta gradualmente alcanzando su nivel máximo a los 5 días de abstinencia. Posteriormente, el número de neuronas es similar en los diferentes periodos de abstinencia.

La ANOVA de una vía demostró diferencias significativas entre los Grupos ($F=(7,43) 57.95, p < 0.0001$).

La prueba de Tukey solo demostró diferencia significativa en el número de neuronas positivas a Fos mostradas por el grupo COC10d, con respecto al número de neuronas positivas mostrada por el grupo:

- ✓ Ext5d (COC10d=65.33 ± 0.88 Vs. Ext5d=114.00 ± 3.28; Tukey test $p < 0.0001$).

La prueba post-hoc NO demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos, en los grupos experimentales:

- ✓ Ext1d (COC10d 65.33 ± 0.88 Vs. 61.17 ± 3.13; Tukey Test NS $p=0.99$);
- ✓ Ext10d (COC10d 65.33 ± 0.88 Vs. 75.17 ± 1.22; Tukey Test NS $p=0.70$);
- ✓ Ext30d (COC10d 65.33 ± 0.88 Vs. 63.17 ± 1.30; Tukey Test NS $p=0.93$);
- ✓ Ext60d (COC10d 65.33 ± 0.88 Vs. 61.00 ± 1.41; Tukey Test NS $p=0.83$) y
- ✓ Ext90d (COC10d 65.33 ± 0.88 Vs. 63.33 ± 1.27; Tukey Test NS $p=0.91$).

Además, la prueba Tukey demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos, entre el grupo salina y los grupos:

- ✓ COC10d (SAL=7.00 ± 0.19 Vs. COC10d=65.33 ± 0.88; Tukey Test $p < 0.0002$),
- ✓ Ext1d (SAL=7.00 ± 0.19 Vs. Ext1d=61.17 ± 3.13; Tukey Test $p < 0.0002$),
- ✓ Ext5d (SAL=7.00 ± 0.19 Vs. Ext5d=114.00 ± 3.28; Tukey Test $p < 0.0001$),
- ✓ Ext10d (SAL=7.00 ± 0.19 Vs. Ext10d=75.17 ± 1.22; Tukey Test $p < 0.0005$),

- ✓ Ext30d (SAL=7.00 ± 0.19 Vs. Ext30d=63.17 ± 1.30; Tukey Test p<0.0006),
- ✓ Ext60d (SAL=7.00 ± 0.19 Vs. Ext60d=61.00 ± 1.41; Tukey Test p<0.0004) y
- ✓ Ext90d (SAL=7.00 ± 0.19 Vs. Ext90d=63.33 ± 1.27; Tukey Test p<0.0001).

Adicionalmente, la prueba post-hoc demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos, mostradas por el grupo Ext5d con respecto a los grupos Ext1d (Tukey Test p<0.0001), Ext10d (Tukey Test p<0.0001), Ext30d (Tukey Test p<0.0001), Ext60d (Tukey Test p<0.0001) y Ext90d (Tukey Test p<0.0001).

La misma prueba NO demostró diferencias en el número de neuronas inmunopositivas entre los grupos Ext1d (Tukey Test NS p=0.40), Ext10d (Tukey Test NS p=1), Ext30d (Tukey Test NS p=0.99), Ext60d (Tukey Test NS p=0.81) y Ext90d (Tukey Test NS p=1).

Ya que la amígdala es responsable de la señalización contextual, se sugiere que el animal se ha encontrado desde la fase activa de consumo y a lo largo de todo el periodo de abstinencia, asociando su entorno con una señal que conlleva a una consecuencia altamente gratificante, en este caso el consumo de la droga.

6.6 Caudado-Putamen.

Tabla 9: Serie fotográfica de la activación neuronal en el CPu a lo largo de los 90 días de abstinencia.

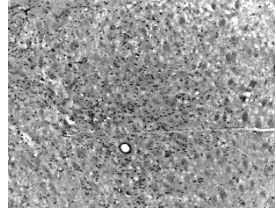
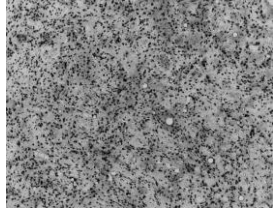
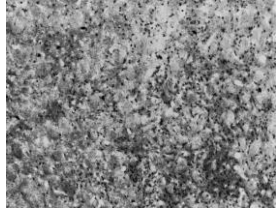
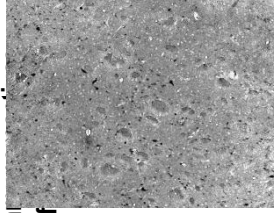
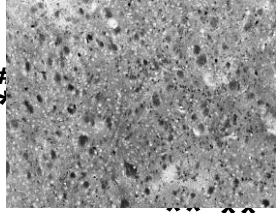
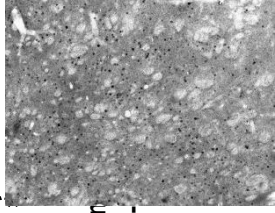
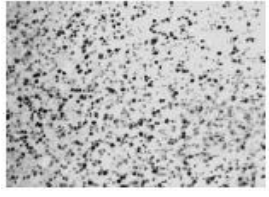
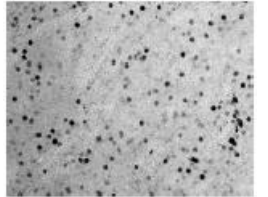
					
Ext 1 día	Ext 5 días	Ext 10 días	Ext 30 días	Ext 60 días	Ext 90 días

Tabla 9b: CPu de los grupos control.

	
Control Positivo (COC10d).	Control Negativo (SAL).

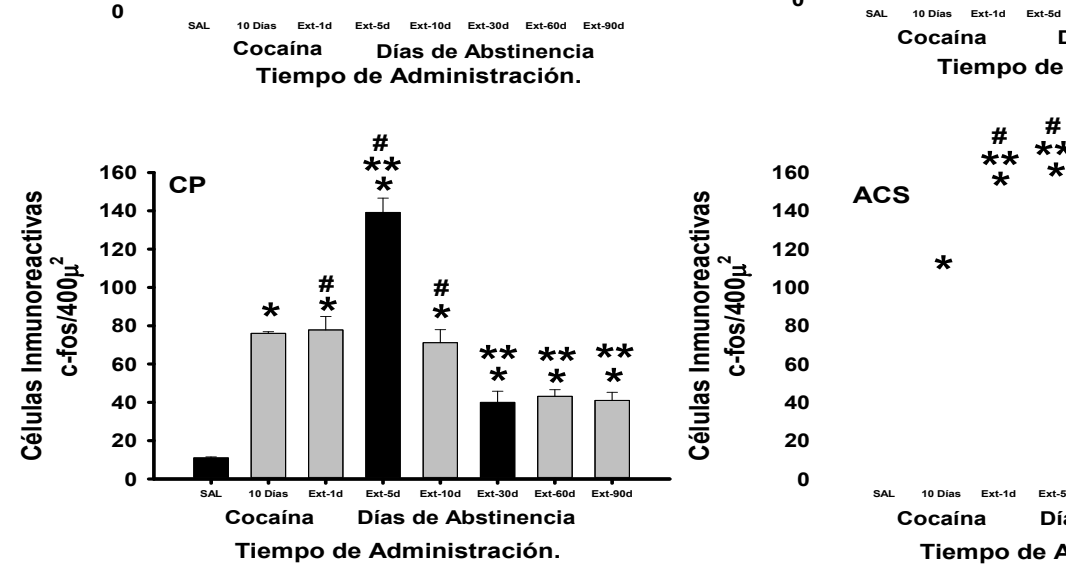


Figura 26: Gráfica de la variación del número de células inmunoreactivas a c-Fos en el CPu, a lo largo de los 90 días del periodo de abstinencia.

Finalmente en el CPu, estructura relacionada con diversos aspectos del control motor se observó que la administración de cocaína, indujo un aumento gradual en el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína Fos. Durante los primeros días de abstinencia se observó un aumento gradual en el número de células inmunoreactivas a la proteína Fos alcanzado su nivel máximo a los 5 días de abstinencia. A partir del décimo día de abstinencia, se observa una disminución gradual en el número de neuronas inmunopositivas a Fos. Sin embargo, el número de neuronas es similar a partir de los 30 días de abstinencia.

La ANOVA de una vía demostró diferencias significativas entre los grupos experimentales ($F = (7,43) 34.27 p < 0.00001$).

La prueba de Tukey demostró diferencia significativa en el número de neuronas positivas a Fos, mostradas por el grupo COC10d, con respecto al número de neuronas positivas mostrada por los grupos:

- ✓ Ext5d (COC10d=76.00 ± 0.85 Vs. Ext5d=139.17 ± 7.42; Tukey test $p < 0.0002$),
- ✓ Ext30d (COC10d=76.00 ± 0.85 Vs. Ext30d=40.00 ± 5.84; Tukey test $p < 0.0001$);
- ✓ Ext60d (COC10d=76.00 ± 0.85 Vs. Ext60d=43.17 ± 3.44; Tukey test $p < 0.0001$)
- ✓ Ext90d (COC10d=76.00 ± 0.85 Vs. Ext90d=41.00 ± 4.25; Tukey test $p < 0.0001$).

Sin embargo, la prueba post-hoc NO demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos en los grupos experimentales:

- ✓ Ext1d (COC10d=76.00 ± 0.85 Vs. Ext1d=77.83 ± 7.03; Tukey Test NS $p = 0.41$) y
- ✓ Ext10d (COC10d=76.00 ± 0.85 Vs. Ext10d=71.17 ± 6.78; Tukey Test NS $p = 0.48$).

Adicionalmente, la prueba post hoc demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína FOS entre el grupo control salina y los grupos:

- ✓ COC10d (SAL=10.75 ± 0.81 Vs. COC10d=76.00 ± 0.85; Tukey Test $p < 0.001$),

- ✓ Ext1d (SAL=10.75 ± 0.81 Vs. Ext1d=77.83 ± 7.03; Tukey Test p<0.004),
- ✓ Ext5d (SAL=10.75 ± 0.81 Vs. Ext5d=139.17 ± 7.42; Tukey Test p<0.0001),
- ✓ Ext10d (SAL=10.75 ± 0.81 Vs. Ext10d=71.17 ± 6.78; Tukey Test p<0.001),
- ✓ Ext30d (SAL=10.75 ± 0.81 Vs. Ext30d=40.00 ± 5.84; Tukey Test p<0.0004),
- ✓ Ext60d (SAL=10.75 ± 0.81 Vs. Ext60d=43.17 ± 3.44; Tukey Test p<0.0002) y
- ✓ Ext90d (SAL=10.75 ± 0.81 Vs. Ext90d=41.00 ± 4.25; Tukey Test p<0.0001).

Adicionalmente, la prueba de Tukey demostró diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos, mostradas por el grupo Ext5d con respecto al número de neuronas inmunopositivas mostradas por los grupos Ext1d (Tukey Test p<0.0002), Ext10d (Tukey Test p<0.0001), Ext30d (Tukey Test p<0.0001), Ext60d (Tukey Test p<0.0001) y Ext90d (Tukey Test p<0.0001).

La prueba post-hoc también demostró diferencias en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos, mostradas por los grupos Ext1d y Ext10d con respecto al número de neuronas inmunopositivas mostrada por los grupos Ext5d (Tukey Test p<0.0003), Ext30d (Tukey Test p<0.0002), Ext60d (Tukey Test p<0.0001) y Ext90d (Tukey Test p<0.0001).

La misma prueba NO demostró diferencias significativas entre los grupos Ext1d (Tukey Test NS p=0.99) y Ext10d (Tukey Test NS p=0.99); y entre los grupos Ext30d (Tukey Test NS p=0.15), Ext60d (Tukey Test NS p=0.82) y Ext90d (Tukey Test NS p=0.92).

Esto sugiere que el animal se mantiene durante todo el periodo de abstinencia en un continuo estado de búsqueda y aunque a partir de los 30 días disminuye la actividad, no regresa a los niveles basales por lo que podemos pensar que durante todo el periodo de abstinencia la conducta de búsqueda de la droga se mantiene presente, reflejando también un estado de ansiedad por parte del sujeto

VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Se ha reportado que la exposición repetida a psicoestimulantes, induce un incremento progresivo de la actividad motora en numerosas especies incluido el ser humano (Todtenkopf y cols., 2002). Este fenómeno se denomina sensibilización conductual y consta de una fase de inducción y otra de expresión (Pierce y Kalivas, 1997). La sensibilización conductual, se asocia a cambios plásticos en los circuitos nerviosos que incrementan el valor motivacional de las drogas (Saliencia) mismos que subyacen al fenómeno de deseo por la droga (Craving) (Di Chiara, 2002).

A nivel neuroquímico, la administración repetida de cocaína produce un incremento en la liberación de dopamina dentro del sistema de recompensa (Kalivas y Stewart, 1991) provocando la constante activación de receptores dopaminérgicos (D1-Like y D2-Like); quienes a su vez mediante la activación de vías de segundos mensajeros regulan la inducción/inhibición de la expresión génica. Este mecanismo requiere de la activación (mediante la fosforilación de la Ser 133) de una molécula llave conocida como factor CREB que es responsable de inducir la expresión de genes de expresión temprana como Fos, Fra y Jun (Nestler, 2001; Iwata, Hewlett, Ferrell, Kantor y Gnegy, 1997).

Fos es una familia de proteínas nucleares ampliamente utilizadas en investigación celular, debido a las cualidades encontradas en ellas como marcadores de actividad neuronal asociada a estímulos (Chaudhuri, 1997; Harlan y García, 1998) entre los que se ha reportado que la cocaína aumenta la expresión de Fos (Cohen, Nguyen y Hyman, 1990; Graybiel, Moratalla y Robertson, 1990; Young, Porrino y Iadorola, 1991).

En el presente estudio, utilizamos a la proteína c-Fos como una herramienta experimental encaminada a monitorear las variaciones en la actividad neuronal de roedores. En este estudio, encontramos que la administración crónica de cocaína en el grupo control (COC10d) generó un incremento en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos en diferentes áreas del cerebro. Estos resultados concordaron con reportes previos de nuestro laboratorio (Rodríguez, 2014) y de otros trabajos en

donde la administración de 10 mg/Kg cocaína durante 10 días consecutivos, indujo un incremento gradual en el número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en distintas áreas del Sistema Mesolimbocortical; este aumento en la actividad neuronal coincidió con un incremento en la actividad locomotora (Robinson y Berridge, 1993; Nestler y Aghajanian, 1997; Hall, Parkinson, Connor, Dickinson y Everitt, 2001; Everitt y cols., 1999; Tran-Nguyen y cols., 1998).

Cuando los animales fueron sometidos a un periodo de extinción, diferentes áreas del sistema de recompensa mostraron un incremento en la actividad neuronal dentro de los primeros 5 días de abstinencia a cocaína. Esta actividad disminuyó gradualmente hasta establecerse alrededor de los 30 días y permaneció constante hasta los 90 días de abstinencia. Es importante denotar que la actividad neuronal de estas áreas fue superior a la mostrada en animales tratados previamente con solución salina.

Con respecto a los núcleos motores como el NAcc Core y CPu se observó un incremento inicial en la expresión de Fos, que alcanzó su valor máximo al 5º día de abstinencia y se estableció a partir de los 30 días permaneciendo constante hasta los 90 días de abstinencia.

Estos resultados fueron congruentes con reportes de estudios previos realizados por Harris y cols., (2007), quienes utilizando Fos B como marcador de actividad neuronal observaron que a la 3ª semana de abstinencia, la actividad neuronal dentro del NAcc se encontró aumentada, estos valores disminuyeron a la 5ª semana de abstinencia, pero se mantuvieron más altos que los de su control salina. Por su parte Larson y cols., (2010) utilizando Δ Fos B y Fos B observaron incrementos en la actividad neuronal de las porciones Shell y Core del NAcc desde las primeras 24 horas de abstinencia, mismos que disminuyeron paulatinamente hasta la 3ª semana manteniéndose siempre mayores que el control salino. El mismo grupo de investigadores también observó un incremento inicial en la actividad neuronal en el CPu que disminuyó desde las primeras 24 horas y hasta la 3ª semana de abstinencia, manteniéndose siempre mayor que el control salino.

El aumento en la expresión de la proteína Fos en los núcleos motores, responde directamente al incremento en la actividad del NAcc Shell. Diversos reportes indican que la exposición crónica a cocaína conduce a desregulaciones en el sistema noradrenérgico, incrementando su actividad (Baumann, Milchanowski y Rothman, 2004; McDougale y cols., 1994; Rudoy, Reyes y Van Bockstaele, 2009; Wee, Mandyam, Lekic y Koob, 2008) y relacionándose estrechamente con un incremento en la vulnerabilidad a sufrir ansiedad y ataques de pánico durante la abstinencia en humanos adictos a cocaína (McDougale y cols., 1994). Suzanne Erb (2010) concluyó que la relación encontrada entre los niveles de ansiedad y la búsqueda de cocaína en respuesta a factores estresantes, es debida al cambio relativo existente entre los niveles de CRF, noradrenalina y dopamina dentro del Sistema Mesolimbicocortical (Erb, 2010).

Ya que el NAcc Core y CPu son los núcleos efectores del movimiento, en ellos recae la ejecución de las conductas de búsqueda, locomoción, craving, ansiedad y/o en su caso anhedonia. Los resultados que obtuvimos mostraron que en la etapa inicial de la abstinencia (hasta los 5 días), los animales se encontraron en un estado de hiperactividad motora, en un continuo estado de búsqueda y como previamente fue establecido por Gawin y Kleber (1986) en un estado altamente ansioso, con una elevada apetencia por el consumo de la droga; pasado este periodo, los síntomas fueron aminorándose progresivamente, hasta establecerse alrededor de los 30 días, periodo en el cual apareció la anhedonia y aunque disminuyó la ansiedad, el craving y el estado de búsqueda, estos no desaparecieron.

Por otra parte, nuestros resultados con respecto a la expresión de Fos en los núcleos límbicos como el NAcc Shell y CPF IL mostraron un incremento inicial que se mantuvo al 5º día de abstinencia, punto a partir del cual disminuyó y se estableció a partir del día 30 hasta el día 90 de abstinencia.

Resultados congruentes con los nuestros fueron previamente descritos por otros autores (Larson y cols., 2010; Harris y cols., 2007; Nic Dhonnchadha y cols., 2012) quienes observaron que la exposición a cocaína indujo incrementos en la expresión de Fos dentro de la porción Shell del NAcc en la etapa inicial de la abstinencia y que esta

actividad fue disminuyendo al paso del tiempo, manteniéndose siempre mayor a la del control salino, Todtenkopf y cols., (2002) también una observaron actividad neuronal mayor a la mostrada por su control salino en el NAcc a los 14 días de abstinencia. En el caso de la CPF IL las observaciones del trabajo de Nic Dhonnchada y cols., (2012) fue un incremento inicial que disminuye paulatinamente, siendo esto congruente con nuestros resultados y sumándose los de Todtenkopf y cols., (2002) a los 14 días de abstinencia.

El efecto motivacional-reforzante inducido por una droga, subyace principalmente en el Núcleo Accumbens Shell, Corteza Prefrontal Infralímbica y Amígdala Basolateral el efecto motor está localizado en otras regiones como el Núcleo accumbens Core y el Caudado Putamen. Las primeras afectan a las segundas, confiriendo ciertas características a la respuesta motora, como la compulsividad, conducta en la que está ampliamente involucrada la CPF IL. Durante la incubación del Craving, existe un incremento en el valor de reforzamiento de la droga, lo que incrementa la motivación por buscarla nuevamente (Robinson y Berridge, 1993; Nestler y Aghajanian, 1997).

Con base en nuestros resultados, se sugiere que el incremento inicial en la actividad neuronal de estas áreas, estuvo directamente relacionada al aumento de la actividad motora (Agitación) y que la posterior disminución que se estableció a los 30 días de abstinencia, podría mostrar la disminución en los niveles de catecolaminas entre ellas DA, lo que llevó al sujeto a un estado anímico depresivo y anhedónico. Esto debido a que una de las neuroadaptaciones consecuentes al consumo crónico de cocaína, es el aumento del número de receptores dopaminérgicos, hecho impulsado por la frecuente acumulación de niveles elevados de Dopamina (Brown, Hanson y Fleckenstein, 2001). Dada esta condición al no existir consumo de la droga el animal se encontró en un estado de hipodopaminergia, pues la dopamina endógena sintetizada no era suficiente para abarcar el número de receptores disponibles, lo que finalmente fue traducido como un estado anímico depresivo.

Las drogas adictivas generan importantes alteraciones neuroadaptativas en la función cerebral, tanto a corto como a largo plazo, en los diversos sistemas de

neurotransmisión (Koob y Le Moal, 2001). Estos sistemas de neurotransmisión participan en la modulación funcional cerebral de la percepción de los estímulos placenteros, así como de la activación de conductas psicomotoras en los mamíferos (Nestler, 2001; Nestler y Aghajanian, 1997; Koob, 2006; White, 2002).

La corteza prefrontal, mediante la activación de neuronas GABAérgicas, mantiene el control inhibitorio de la actividad del NAcc y del VTA. Al igual que el NAcc Shell, la CPF es una de las regiones del cerebro que más rápidamente desarrolla alteraciones morfológicas inducidas por el consumo de la droga, está involucrada con la atribución del “saliencia”, el control inhibitorio/regulación de emociones y la toma de decisiones, por lo que la regulación inadecuada de esta estructura, en sujetos adictos es responsable de la potencialización del valor de la droga y la pérdida de control sobre su consumo, dando lugar a conductas de carácter compulsivo (Carr y Sesack, 2000; Kalivas y Stewart, 1991). Se sabe que los receptores 5-HT (5-HT₂ y 5-HT₃) son encargados de modular los efectos neuroquímicos y conductuales asociados con el uso de drogas. El uso de antagonistas de los receptores 5-HT₃ contrarresta la liberación de DA en el núcleo accumbens, por otra parte los subtipos 5-HT₂ atenúan la activación. Por lo que la activación de estos subtipos de receptores incrementa la actividad motora reflejando la búsqueda compulsiva por la droga (Di Giovanni, Esposito y Di Matteo, 2010).

Se ha reportado que durante la administración continua de cocaína, las señales contextuales asociadas al consumo, toman mucha relevancia. La amígdala basolateral tiene como función la asociación de señales al contexto, está involucrada en aspectos de respuesta emocional (Nader, Schafe y Le Doux, 2000) y es considerada la región primaria para la codificación de información y aprendizaje de estímulos condicionados, tanto aversivos como reforzantes (Everitt, Cardinal, Parkinson y Robbins, 2003.). Participa en el proceso de motivación incentiva de búsqueda de cocaína, mediante la consolidación de memorias asociativas que facilitan la búsqueda inducida por contexto, al mismo tiempo que contribuyen y fortalecen la incubación del Craving. En el proceso adictivo, las memorias asociadas al contexto de consumo, usurpan el aprendizaje

neural normal y los procesos de memoria, razón por la que se vuelve responsable mayoritaria en la recaída y el uso compulsivo, cuando los humanos y/o animales abstinentes, son re expuestos a señales previamente asociadas al consumo (Nestler, 2001). La ABL tiene conexiones intrínsecas bidireccionales con la CPF

Los resultados obtenidos en nuestro estudio mostraron a la ABL como el área anatómica en la que se observó el patrón de inmunoreactividad a Fos más activo, esta actividad se mantuvo constante durante todo el periodo de abstinencia sin mostrar diferencias significativas con el grupo control de animales tratados con cocaína.

En un estudio previo Harris y cols., (2007) encontraron que a la 3ª y 5ª semanas de abstinencia a cocaína, los niveles de expresión de Fos, contabilizados en las porciones Shell y Core del NAcc, así como en la ABL, se encontraban por encima de los conteos celulares obtenidos de los controles salinos.

Existen reportes de estudios realizados en humanos adictos a cocaína (Volkov y cols., 2006; Volkow, Wang, Fowler, Tomasi y Telang, 2011), donde mediante técnicas de imagenología (PET), se midió el cambio en los niveles de dopamina endógena liberada en el cerebro, se mostró a los sujetos experimentales una serie de videos, con contenido explícito de consumo de drogas y posteriormente una serie de videos neutrales, probaron que al observar los videos con imágenes asociadas al consumo de cocaína existía un rápido incremento en la liberación de DA en el estriado, llegando a observarse niveles incluso mayores a los obtenidos durante el consumo de la droga (Volkov y cols., 2011), hecho que fue confirmado por nuestros resultados. Este incremento fue proporcional a la severidad de la adicción y a mayor severidad fue mayor la intensidad del Craving. Lo que proporcionó la evidencia para sustentar que la dopamina era proveniente del estriado dorsal (región implicada en el aprendizaje de hábitos y memoria ejecutiva) y que está implicada en el desarrollo del craving.

Esto sugiere, que durante la abstinencia, los procesos de memoria emocional y las señales contextuales, mantienen la activación de áreas encargadas de traducir la información en el circuito de recompensa, debido a que la memoria adictiva está

basada en un proceso de aprendizaje condicionado, en el que un estímulo brinda un efecto reforzador, si la conducta se repite con frecuencia, se adquiere la habilidad de predecir la recompensa con el hecho de recibir una señal asociada al estímulo (Brown, Robertson y Fibiger, 1992; Hotsenpiller, Horak y Wolf, 2002; Alleweireldt, Weber, Kirschner, Bullock y Neisewander, 2002).

Los animales experimentales de este trabajo, fueron previamente sometidos a un protocolo de sensibilización conductual, durante el cual el animal adquirió una “memoria adictiva” asociando las señales y/o eventos que podía percibir dentro del contexto de administración, aprendiendo a relacionarlos como una sucesión de eventos previos a recibir el efecto altamente gratificante de la droga. Por lo que nosotros proponemos que al someterse a un periodo de abstinencia, la actividad de la ABL se mantuvo, debido a que la repetición de las señales contextuales, daba al animal el aviso premonitorio de que el estímulo reforzante iba a llegar, desatando el deseo de consumo de la droga. Existen reportes que respaldan que el aumento de DA en la CPF facilita la actividad de las neuronas de la amígdala, por lo que en el estado sensibilizado se pierde la acción inhibitoria de la CPF sobre la ABL, además de aumentar la actividad glutamatérgica de la ABL sobre el NAcc (Volkow y Fowler, 2000; Goldstein, Volkow, Wang, Fowler y Rajaram, 2001; Kalivas y Stewart, 1991).

Finalmente en el VTA, observamos que esta estructura mantuvo una actividad mayor al control salino durante los 90 días que duro el periodo de abstinencia, por lo que podemos decir, que estuvo permanentemente estimulado, sabemos que esta estimulación fue indirecta, pues al encontrarse los animales en estado de abstinencia no recibieron ningún estímulo-droga. La estimulación en el VTA provino de otras áreas del sistema, principalmente la ABL y CPF, quienes proyectan directamente al VTA. El cambio en el número de receptores dopaminérgicos localizados en neuronas GABAérgicas, provocó la pérdida de la regulación sobre las neuronas del VTA, pues el VTA envía proyecciones dopaminérgicas a la CPF y esta a su vez envía proyecciones glutamatérgicas de vuelta al VTA y NAcc Shell y es mediante la conexión existente entre CPF-NAcc que se lleva a cabo la modulación del VTA.

Basados en los resultados obtenidos, proponemos que:

1. La ABL es la estructura anatómica llave del proceso de abstinencia y
2. Es responsable de la estimulación indirecta del circuito de recompensa.

Este proceso se explica mediante el mecanismo resumido a continuación: La presentación de una señal asociada a la droga (Señal asociada al contexto de consumo) trajo al sujeto el recuerdo del efecto reforzante (ABL), hecho tras el cual se desencadenaron y/o exacerbaron una serie de síntomas asociados al establecimiento del craving, hecho que le motivó (NAcc Shell) a buscar nuevamente un estado de equilibrio hedónico, generando la conducta de búsqueda (NAcc Core) de forma compulsiva (CPF IL) y activándose el efector motor (CPu) que finalmente ejecutó la acción.

La adicción a la cocaína, conceptualizada, desde el punto de vista neuro-funcional, es debida al desarrollo y establecimiento a largo plazo, de procesos neuro-adaptativos, donde se alteran los mecanismos celulares y moleculares, que conllevan a la generación alterada de los patrones funcionales del sistema neuroquímico en el cerebro, los que en consecuencia generan la conducta patológica adictiva (búsqueda compulsiva, ansiedad, depresión, anhedonia y craving) en el sujeto (White, 2002).

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Alleweireldt A. T., Weber S. M., Kirschner K. F., Bullock B. L., Neisewander J. L., 2002. Blockade or stimulation of D1 dopamine receptors attenuates cue reinstatement of extinguished cocaine-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 159 (3): 284-293.

Anderson S. M., Pierce R. C., 2005. Cocaine-induced alterations in dopamine receptor signaling: implications for reinforcement and reinstatement. *Pharmacology & Therapeutics*. 106 (3): 389-403.

Barr A. M., Markou A. Phillips A. G., 2002. A “Crash” Course on Psychostimulant Withdrawal as a Model of Depression. *Trends in Pharmacological Sciences*. 23 (10): 475-482.

Baumann M. H., Milchanowski A. B., Rothman R. B., 2004. Evidence for alterations in alpha2-adrenergic receptor sensitivity in rats exposed to repeated cocaine administration. *Neuroscience*. 125 (3): 683-690.

Belin D., Jonkman S., Dickinson A., Robbins T. W., Everitt B. J., 2009. Parallel and interactive learning processes within the basal ganglia: relevance for the understanding of addiction. *Behavioral Brain Research*. 199 (1): 89–102.

Belsasso G., Estañol B., Juarez H. Los Sistemas de Recompensa del Cerebro. *Revista de Neurología, Neurocirugía y Psiquiatría*. Número Especial 1994-2001: p 22-24.

Berke J. D., Hyman S. E., 2000. Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron Journal*. 25 (3): 515-532.

Bordet R., Ridray S., Carboni S., Diaz J., Sokoloff P., Schwartz J. C., 1997. Induction of dopamine D3 receptor expression as a mechanism of behavioral sensitization to levodopa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. USA. 94 (7): 3363–3367.

Brown E. E., Robertson G. S., Fibiger H. C., 1992. Evidence for conditional neuronal activation following exposure to a cocaine-paired environment: role of forebrain limbic structures. *Journal of Neuroscience*. 12 (10): 4112-4121.

Brown J. M., Hanson G. R., Fleckenstein A. E., 2001. Cocaine-induced increases in vesicular dopamine uptake: role of dopamine receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy*. 298 (3): 1150-1153.

Brown J. M., Hanson G. R., Fleckenstein A. E., 2001. Regulation of the vesicular monoamine transporter-2: a novel mechanism for cocaine and other psychostimulants. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy*. 296 (3): 762-767.

Callado L. F., 2001. *Neurobiología de la drogadicción: Cocaína y drogas de Abuso*. Osazunas. 4: 197-210.

- Camí J., Farré M., 2003. Drug addiction. *New England Journal of Medicine*. 349 (10): 975-986.
- Carlezon W. A., Duman R. S., Nestler E. J., 2005. The Many Faces of CREB. *Trends in Neuroscience*. 28 (8): 436-445.
- Carr D. B., Sesack S. R., 2000. Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *Journal of Neuroscience*. 20 (10): 3864-3873.
- Censo de Población y Vivienda 2010. Disponible en www.inegi.org.mx (07 Sep 2012)
- Chaudhuri A., 1997. Neural activity mapping with inducible transcription factors. *Neuroreport*. 8 (16): v-ix.
- Cohen B. M., Nguyen T. V., Hyman S. E., 1990. Cocaine-induced changes in gene expression in rat brain. *NIDA Research Monographs*. 105: 175-181.
- Corominas-Roso M., Roncero C., Bruguera E., Casas M., 2007. The dopaminergic system and addictions. *Revista de Neurología*. 44 (1): 23-31.
- Di Chiara G., 2002. From rats to humans and return: testing addiction hypotheses by combined PET imaging and self-reported measures of psychostimulant effects. Commentary on Volkow et al. 'Role of dopamine in drug reinforcement and addiction in humans: results from imaging studies'. *Behavioral Pharmacology*. 13 (5-6): 371-377.
- Di Chiara G., 2002. Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behavioral Brain Research*. 137(1-2):75-114.
- Di Giovanni G., Esposito E., Di Matteo V., 2010. Role of serotonin in central dopamine dysfunction. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 16 (3): 179-194.
- El Hage C., Rappeneau V., Etievant A., Morel AL., Scarna H., Zimmer L., Bérod A., 2012. Enhanced anxiety observed in cocaine withdrawn rats is associated with altered reactivity of the dorsomedial prefrontal cortex. *PLoS One*. 7 (8): e43535.

Encuesta de Adicciones Ciudad de México 2006. Disponible en <http://www.iasis.df.gob.mx/ccadf/> (12 Nov 2012).

Encuesta Nacional de Adicciones 2011. Disponible en www.inprf.gob.mx (07 Sep 2012).

Erb S., 2010. Evaluation of the relationship between anxiety during withdrawal and stress-induced reinstatement of cocaine seeking. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*. 34 (5): 798-807.

Everitt B. J., Cardinal R. N., Parkinson J. A., Robbins T. W., 2003. Appetitive behavior: impact of amygdala-dependent mechanisms of emotional learning. *Annals of New York Academy of Science*. 985: 233-250.

Everitt B. J., Parkinson J. A., Olmstead M. C., Arroyo M., Robledo P., Robbins T. W., 1999. Associative processes in addiction and reward the role of amygdala-ventral strial subsystems. *Annals of New York Academy of Science*. 877: 412-438.

Feltenstein M. W., See R. E., 2008. The neurocircuitry of addiction: an overview. *British Journal of Pharmacology*. 154 (2): 261–274.

Fleming J. A., Byck R., Barash P. G., 1990. Pharmacology and therapeutic applications of cocaine. *Anesthesiology*. 73 (3): 518-531.

Freeman W. M., Patel K. M., Brucklacher R. M., Lull M. E., Erwin M., Morgan D., Roberts D. C., Vrana K. E., 2008. Persistent alterations in mesolimbic gene expression with abstinence from cocaine self-administration. *Neuropsychopharmacology*. 33 (8):1807-1817.

Gawin F. H., Ellinwood E. H., 1988. Cocaine and Other Stimulants. Actions, Abuse and Treatment. *The New England Journal of Medicine*. 318 (18): 1173-1182.

Gawin F. H., Kleber H. D., 1986. Abstinence symptomatology and psychiatric diagnosis in cocaine abusers. Clinical observations. *Archives of General Psychiatry*. 43 (2): 107-113.

Gawin F. H., Kleber H. D., 1986. Pharmacologic treatments of cocaine abuse. *Psychiatric Clinics of North America*. 9(3): 573-583.

Goldstein R. Z., Volkow N. D., Wang G. J., Fowler J. S., Rajaram S., 2001. Addiction changes orbitofrontal gyrus function: involvement in response inhibition. *Neuroreport*. 12 (11): 2595-2599.

Goodman, L. S., Gilman, A., 1990. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Kennedy S. K., Longnecker D. E. *Historia y Principios de la Anestesiología*. Mc. Graw-Hill. Pp 313-325.

Goodman, L. S., Gilman, A., 1990. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Marshally B. E., Longnecker D. E. *Anestésicos Generales*. Mc. Graw-Hill. Pp 327-352.

Goodman, L. S., Gilman, A., 1990. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. O'Brien C.P. *Adicción y Abuso de Sustancias Tóxicas*. Mc. Graw-Hill. Pp 595-617.

Graybiel A. M., Moratalla R., Robertson H. A., 1990. Amphetamine and cocaine induced drug- specific activation of the c-fos gene in striosome – matrix compartments and limbic subdivisions of the striatum. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 87 (17): 6912-6916.

Grimm J. W., Hope B. T., Wise R. A., Shaham Y., 2001. Incubation of cocaine craving after withdrawal. *Nature* 412 (6843): 141–142.

Haile C. N., Hiroi N., Nestler E. J., Kosten T. A., 2001. Differential behavioral responses to cocaine are associated with dynamics of mesolimbic dopamine proteins in Lewis and Fischer 344 rats. *Synapse*. 41 (3):179-190.

Haile N. C., GrandPre T., Kosten T. A., 2001. Chronic unpredictable stress, but not chronic predictable stress, enhances the sensitivity to the behavioral effects of cocaine rats. *Psychopharmacology*. 154 (2):213-20.

Hall J., Parkinson J. A., Connor T. M., Dickinson A., Everitt B. J., 2001. Involvement of the central nucleus of the amygdala and nucleus accumbens core in mediating

Pavlovian influences an instrumental behavior. *European Journal of Neuroscience*. 13 (10):1984-1992.

Harlan R. E., García M. M., 1998. Drugs of abuse and immediate-early genes in the forebrain. *Molecular Neurobiology*. 16 (3): 221-267.

Harris G. C., Hummel M., Wimmer M., Mague S. D., Aston-Jones G., 2007. Elevations of FosB in the nucleus accumbens during forced cocaine abstinence correlate with divergent changes in reward function. *Neuroscience*. 147 (3):583-591.

Herrera D. H., Robertson H. A., 1996. Activation of C-Fos in the Brain. *Progress in Neurobiology*. 50 (2-3): 83-107.

Hotsenpiller G., Horak B. T., Wolf M. E., 2002. Dissociation of conditioned locomotion and Fos induction in response to stimuli formerly paired with cocaine. *Behavioral Neuroscience*. 116 (4): 634-645.

Hotsenpiller G., Wolf M. E., 2002. Conditioned locomotion is not correlated with behavioral sensitization to cocaine: an intra-laboratory multi-sample analysis. *Neuropsychopharmacology*. 27 (6): 924-929.

Hotsenpiller G., Wolf M. E., 2002. Extracellular glutamate levels in prefrontal cortex during the expression of associative responses to cocaine related stimuli. *Neuropharmacology*. 43 (8): 1218-1229.

Hunt W. A., Barnett L. W., Branch L. G., 1971. Relapse rates in addiction programs. *Journal of Clinical Psychology*. 27 (4): 455-456.

Hyman S. E., Malenka R. C., 2001. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nature Reviews Neuroscience*. 2 (10): 695-703.

Hyman S. E., Malenka R. C., Nestler E. J., 2006. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annual Review of Neuroscience*. 29: 565-98.

Informe SISVEA 2009. Disponible en http://www.dgepi.salud.gob.mx/2010/plantilla/informes_sisvea (12 Nov 2012).

- Iwata S. I., Hewlett G. H., Ferrell S.T., Kantor L., Gnegy M. E., 1997. Enhanced dopamine release and phosphorylation of synapsin I and neuromodulin in striatal synaptosomes after repeated amphetamine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy*. 283 (3): 1445-1452.
- Jaffe J. H., Cascella N. G., Kumor K. M., Sherer M. A., 1989. Cocaine-induced cocaine craving. *Psychopharmacology* 97 (1): 59–64.
- Johnson Z. V., Revis A. A., Burdick M. A., Rhodes J. S., 2010. A similar pattern of neuronal Fos activation in 10 brain regions following exposure to reward- or aversion-associated contextual cues in mice. *Physiology & Behavior*. 99 (3): 412-8.
- Kalivas P. W., Stewart J., 1991. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress- induced sensitization of motor activity. *Brain Research Review*. 16 (3): 223-244.
- Khan Z. U., Mrzljak L., Gutierrez A., De la Calle A., Goldman-Rakic P. S., 1998. Prominence of the dopamine D2 short isoform in dopaminergic pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 95 (13): 7731– 7736.
- Koob G. F., 2006. The neurobiology of addiction: a neuroadaptational view relevant for diagnosis. *Addiction*, 101: 23–30.
- Koob G.F., Le Moal M., 2001. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology*. 24(2):97-129.
- Kuribara H., 1996. Effects of interdose interval on ambulatory sensitization to methamphetamine, cocaine and morphine in mice. *European Journal Pharmacology*. 316 (1): 1-5.
- Larson E. B., Akkentli F., Edwards S., Graham D. L., Simmons D. L., Alibhai I. N., Nestler E. J., Self D. W., 2010. Striatal regulation of Δ FosB, FosB, and c-Fos during cocaine self-administration and withdrawal. *Journal of Neurochemistry*. 115 (1):112-122.

Laurier L. G., Corrigall W. A., George S. R., 1994. Dopamine receptor density, sensitivity and mRNA levels are altered following self-administration of cocaine in the rat. *Brain Research*. 634 (1): 31-40.

Luo Y. X., Xue Y. X., Shen H. W., Lu L., 2013. Role of amygdala in drug memory. *Neurobiology of Learning and Memory*. 105: 159-73.

Martínez J. F., Martín A., Valero M., Salguero M., 2002. Síndrome de Abstinencia. Hospital Regional Carlos Haya. Unidad de Cuidados Críticos y Urgencias. Malaga.

Mayr B., Montminy M., 2001. Transcriptional Regulation by the Phosphorylation-Dependent Factor CREB. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2 (8): 599- 609.

McClung C. A., Nestler E. J., 2003. Regulation of gene expression and cocaine reward by CREB and DeltaFosB. *Nature Neuroscience*. 6 (11): 1208-1215.

McDougle C. J., Black J. E., Malison R. T., Zimmermann R. C., Kosten T. R., Heninger G. R., Price L. H., 1994. Noradrenergic dysregulation during discontinuation of cocaine use in addicts. *Archives of General Psychiatry*. 51 (9): 713-719.

Meana, J. J., Barturen, F. (1993) Psicoestimulantes: Cocaína, Anfetaminas y Xantinas. Instituto Deusto de Drogodependencias. Universidad de Bilbao. España. Pp 15-44, 109-125.

Moratalla R., Elibol B., Vallejo M., Graybiel A. M., 1996. Network-level changes in expression of inducible Fos-Jun proteins in the striatum during chronic cocaine treatment and withdrawal. *Neuron*. 17 (1): 147-156.

Morgan J. I., Curran T., 1989. Stimulus-Transcription Coupling in Neurons: Role of Cellular Immediate- Early Genes. *Trends in Neurosciences*. 12 (11): 459-462.

Morgan J. I., Curran T., 1995. Immediate-Early Genes: Ten Years On. *Trends in Neurosciences*. 18: 66-67.

Nader K., Schafe G. E., Le Doux J. E., 2000. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature*. 406 (6797): 722-726.

Neisewander J. L., Baker D. A., Fuchs R. A., Tran-Nguyen L. T., Palmer A., Marshall J. F., 2000. Fos protein expression and cocaine seeking behavior in rats after exposure to a cocaine self-administration environment. *Journal of Neuroscience* 20 (2): 798–805.

Nestler E. J., 2000. Genes and addiction. *Nature Genetics*. 26 (3): 277-281.

Nestler E. J., 2001. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nature Reviews Neuroscience*. 2 (2): 119-128.

Nestler E. J., 2005. The neurobiology of cocaine addiction. *Science & Practice Perspectives*. 3 (1): 4-10.

Nestler E. J., Aghajanian G. K., 1997. Molecular and cellular basis of addiction. *Science*. 278 (5335): 58-63.

Nic Dhonnchadha B. Á., Lovascio B. F., Shrestha N., Lin A., Leite-Morris K. A., Man H. Y., Kaplan G. B., Kantak K. M., 2012. Changes in expression of c-Fos protein following cocaine-cue extinction learning. *Behavioral Brain Research*. 234 (1):100-106.

NIH NIDA “Cocaína: Abuso y Adicción”. Serie de Reportes de Investigación. Disponible en: (04 Sep 2012).

O’Brien C. P., Childress A. R., Mc Lelland A. T., Ehrman R., 1992. Classical conditioning in drug dependent humans. *Annals of New York Academy of Sciences* 654: 400–415.

Pandey S. C., Chartoff E. H., Carlezon W. A., Zou J., Zhang H., Kreibich A. S., Blendy J. A., Crews F. T., 2005. CREB gene transcription factors: role in molecular mechanisms of alcohol and drug addiction. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 29 (2): 176-184.

Paxinos G, Watson C. (1998). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press. San Diego, Cal. USA.

Phillips A. G., Ahn S., Howland J. G., 2003. Amygdalar control of the mesocorticolimbic dopamine system: parallel pathways to motivated behavior. *Neuroscience Biobehavioral Review*. 27 (6): 543-554.

- Pickens C. L., Airavaara M., Theberge F., Sanya Fanous S., Hope B. T., Shaham Y., 2011. Neurobiology of the Incubation of Drug Craving. *Trends in Neurosciences*. 34 (8): 411-420.
- Pierce R. C., Kalivas P. W., 1997. A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine like psychostimulants. *Brain Research Review*. 25 (2):192-216.
- Robinson T. E., Berridge K. C., 1993. The neural basis of drug craving: An incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research Review*. 18 (3):247-291.
- Robinson T. E., Berridge K. C., 2000. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive – sensitization view. *Addiction*. 95 Suppl 2: S91-117.
- Rodríguez D. I., 2014. Caracterización del Perfil temporal de la Expresión de la Proteína Fos Inducida por la Administración de Cocaína en el Sistema meso-límbico-cortical de la rata. Tesis de Licenciatura. D. F., UNAM. México.
- Rudoy C. A., Reyes A. R., Van Bockstaele E. J., 2009. Evidence for beta1-adrenergic receptor involvement in amygdalar corticotropin-releasing factor gene expression: implications for cocaine withdrawal. *Neuropsychopharmacology*. 34 (5): 1135-1148.
- Sesack S. R., Carr D. B., Omelchenko N., Pinto A., 2003. Anatomical substrates for glutamate-dopamine interactions: evidence for specificity of connections and extrasynaptic actions. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1003: 36-52.
- Shalev U., Grimm J. W., Shaham Y., 2002. Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review. *Pharmacological Reviews*. 54 (1): 1–42.
- Shalev U., Morales M., Hope B., Yap J., Shaham Y., 2001. Time-dependent changes in extinction behavior and stress-induced reinstatement of drug seeking following withdrawal from heroin in rats. *Psychopharmacology* 156 (1): 98–107.
- Shaywitz A. J., Greenberg M. E., 2003. CREB: A Stimulus-Induced Transcription Factor Activated by a Diverse Array of Extracellular Signals. *Annual Review of Biochemistry*. 68: 821-861.

Sheng M., Thompson M. A., Greenberg M. E., 1991. CREB: a Ca (2+)-regulated transcription factor phosphorylated by calmodulin-dependent kinases. *Science*. 252 (5011): 1427-1430.

Sibley D. R., Monsma F. J., Shen Y., 1993. Molecular neurobiology of dopaminergic receptors. *International Review Neurobiology*. 35: 391-415.

Sinha R., Catapano D., O'Malley S., 1999. Stress-induced craving and stress responses in cocaine dependent individuals. *Psychopharmacology* 142 (4): 343–351.

Sistema de Reporte de Información en Drogas 2011. Disponible en <http://www.inprf.gob.mx/psicosociales/sride> (13 Nov 2012).

Solomon R. L., Corbit J. D., 1974. An Opponent-Process Theory of Motivation: temporal Dynamics of Affect. *Psychological Review*. 81 (2): 119-145.

Sousa F. C., Gomes P. B., Macedo D. S., Marinho M. M., Viana G. S., 1999. Early withdrawal from repeated cocaine administration up regulates muscarinic and dopaminergic D2-like receptors in rat neostriatum. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 62 (1): 15–20.

Todtenkopf M. S., Mihalakopoulos A., Stellar J. R., 2002. Withdrawal duration differentially affects c-fos expression in the medial prefrontal cortex and discrete subregions of the nucleus accumbens in cocaine-sensitized rats. *Neuroscience*. 114 (4):1061-1069.

Tran-Nguyen L. T., Fuchs R. A., Coffey G. F., Baker D. A., O'Dell L. E., Neisewander J. L., 1998. Time-dependent changes in cocaine-seeking behavior and extracellular dopamine levels in the amygdala during cocaine withdrawal. *Neuropsychopharmacology*. 19 (1):48-59.

UNOCD World Drug Report 2012. Disponible en http://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/WDR2012/WDR_2012_web_small.pdf (13 Nov 2012).

Unterwald E. M., Ho A., Rubinfeld J. M., Kreek M. J., 1994. Time course of the development of behavioral sensitization and dopamine receptor up-regulation during

binge cocaine administration. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy*. 270 (3): 1387–1396.

Vanderschuren L. J., Pierce R. C., 2010. Sensitization processes in drug addiction. *Current topics in behavioral neurosciences*. 3:179-195.

Volkow N. D., Fowler J. S., 2000. Addiction, a disease of compulsion and drive: involvement of the orbitofrontal cortex. *Cerebral Cortex*. 10 (3): 318-325.

Volkow N. D., Wang G. J., Fowler J. S., Tomasi D., Telang F., 2011. Addiction: beyond dopamine reward circuitry. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*. 108 (37): 15037-15042.

Volkow N. D., Wang G. J., Telang F., Fowler J. S., Logan J., Childress A. R., Jayne M., Ma Y., Wong C., 2006. Cocaine cues and dopamine in dorsal striatum: mechanism of craving in cocaine addiction. *Journal of Neuroscience*. 26 (24): 6583-6588.

Warner E. A., 1993. Cocaine abuse. *Annals of Internal Medicine Journal*. 119 (3): 226-235.

Washton, A. M. (1995) *La Adicción a la Cocaína. Tratamiento, Recuperación y Prevención*. Ed. Paidós. Pp 25-90.

Wee S., Mandyam C. D., Lekic D. M., Koob G. F., 2008. Alpha 1-noradrenergic system role in increased motivation for cocaine intake in rats with prolonged access. *European Neuropsychopharmacology*. 18 (4): 303-311.

Xing J., Ginty D. D., Greenberg M. E., 1996. Coupling of the RAS-MAPK pathway to gene activation by RSK2, a growth factor-regulated CREB kinase. *Science*. 273 (5277): 959-963.

Xue Y., Steketee J. D., Rebec G. V., Sun W., 2011. Activation of D₂-like receptors in rat ventral tegmental area inhibits cocaine-reinstated drug-seeking behavior. *European Journal of Neuroscience*. 33 (7): 1291-1298.

Young S. T., Porrino L. J., Iadorola M. J., 1991. Cocaine induces strial c-fos immunoreactive proteins via dopaminergic D1 receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 88 (4):1291-1295.

Zahm D.S., 2000. An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 24 (1): 85-105.

LISTA DE ABREVIATURAS.

5HT	Serotonina.
ABL.....	Amígdala Basolateral.
AC.....	Adenilato Ciclasa.
ADN ó DNA.....	Acido Desoxirribonucleico.
	(Siglas en español o en ingles respectivamente).
AMPA.....	Tipo de receptor de Glutamato.
ANOVA.....	Análisis de Varianza (Por sus siglas en ingles).
AP	Anteroposterior.
BDNF.....	Brain Derived Neurotrophic Factor.
cAMP ó AMPc	Adenosin Mono Fosfato cíclico.
	(Siglas en español o en ingles respectivamente).
COC10d	Grupo control positivo, referente a animales administrados. con cocaína 10 días consecutivos.
CPu	Caudado Putamen.
CRE.....	Elemento de Respuesta a AMPc (Por sus siglas en ingles).
CREB.....	Elemento de Unión Respuesta a AMPc (Por sus siglas en ingles).
DA	Dopamina.
DAB	Diaminobenzidina.
ENA	Encuesta Nacional de Adicciones.
ERK	Proteínas Cinasas Reguladoras de Señales Extracelulares. (Por sus siglas en ingles).
Ext(x)d	Grupos experimentales sometidos a “x” días de extinción.

FDAFood and Drug Administration.

GABAÁcido Gamma-Aminobutírico (Por sus siglas en ingles).

GluA2Subtipo de receptores de glutamato.

GDNFFactor Neurotrófico Derivado de Células Gliales.

H.R.Humedad Relativa.

IAPA..... Instituto para la Atención y Prevención de las Adicciones.

IL..... Infra Límbica (Corteza).

INEGI..... Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

IP..... Intra-Peritoneal.

mPFC..... Corteza Prefrontal medial.

mRNA ó RNAmÁcido Ribonucleico mensajero.

(Siglas en inglés y español respectivamente).

NANoradrenalina.

NAccNúcleo Accumbens.

NSSin diferencia significativa (Análisis de varianza).

PBSSolución Buffer Fosfatos (Por sus siglas en ingles).

PBS-GTSolución Buffer Fosfatos, adicionado con suero de
cabra y Tritón X-100.

PKAProteína Cinasa A.

SAL..... Grupo control negativo, animales administrados con SSI.

SISVEASistema de Vigilancia Epidemiológica de las Adicciones.

SNCSistema Nervioso Central.

SRIDSistema de Reporte de Información en Drogas.

SSISolución Salina Isotónica.

T.A.Temperatura ambiente.

UNODC..... Oficina de Naciones Unidas contra la Droga y el Delito.

(Por sus siglas en ingles).

VTAÁrea Ventro-Tegmental (Por sus siglas en ingles).