



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Disminución del condicionamiento inducido
por anfetaminas en un modelo de preferencia
de sitio mediante la administración de
moléculas betalactámicas en ratas Wistar.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

KATIA EDITH MENDOZA NEGRETE

DIRECTORA DE TESIS:

DOCTORA CLAUDIA GÓMEZ ACEVEDO

Ciudad Universitaria, CD. MX., 2022





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.

Hoja de datos del jurado

1. Datos del alumno

Mendoza
Negrete
Katia Edith
5572852681
Universidad Nacional
Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
312056339

2. Datos del tutor

Dra.
Claudia
Gómez
Acevedo

3. Datos del Sinodal 1

Dra.
Pilar
Durán
Hernández

4. Datos del Sinodal 2

Dr.
Julio Eduardo Roque
Morán
Andrade

5. Datos del Sinodal 3

Dr.
Abraham
Ochoa
Aguilar

6. Datos del Sinodal 4

Dra.
Fabiola
Hernández
Vázquez

7. Datos del trabajo escrito

Disminución del
condicionamiento
inducido por anfetaminas
en un modelo de
preferencia de sitio
mediante la
administración de
moléculas betalactámicas
en ratas Wistar.
p 60
2022

AGRADECIMIENTOS

A mis padres: Edith y Alberto, por su infinito amor y apoyo incondicional.

A mi hermana Melissa, por ser mi más grande apoyo, mi compañera de vida, mi confidente. Por motivarme cada vez que pensaba en rendirme y darme razones para seguir adelante.

A la Dra. Claudia, por recibirme en su laboratorio y depositar su confianza en mí para llevar a cabo este proyecto.

A Ari, mi jefa, colega y amiga, por todos los días que compartimos y aprendimos juntas, las aventuras que tuvimos, cuando reímos, nos emocionamos, todas las veces que nos caímos y nos levantamos.

A Abraham, por sus sabios consejos, su apoyo sincero y la amistad que me brindó.

A mis colegas de laboratorio, por compartirme su entusiasmo y amor por la ciencia.

A mis sinodales, por tomarse el tiempo de revisar mi tesis y hacerme observaciones, por su paciencia y acertadas opiniones.

A las ratas Wistar, cuyas valiosas vidas aportaron datos interesantes e importantes para la comunidad científica.

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
LISTA DE ABREVIATURAS	8
1. MARCO TEÓRICO	9
1.1 Adicción	9
1.1.1 Etapas de la adicción	10
1.1.2 Incidencia a nivel nacional e internacional	12
1.1.3 Sustancias de abuso	13
1.1.4 Estimulantes.....	15
1.2 Anfetaminas	16
1.2.1 Usos clínicos de las anfetaminas	18
1.3 Sistema de Recompensa	19
1.3.1 Alteraciones generales en el sistema de recompensa inducidas por fármacos	21
1.3.3 Alteraciones del sistema de recompensa inducidas por anfetaminas	22
1.3.3 Alternativas terapéuticas y presentación del problema	24
1.4 Moléculas betalactámicas	25
1.4.1 Farmacología general de las moléculas betalactámicas.....	25
1.4.2 Tipos de betalactámicos	26
1.4.3 Funciones neuroinmoduladoras de los betalactámicos.....	27
1.4.4 Efecto de betalactamas en adicciones a otras moléculas	29
1.5 Modelos animales de adicciones	30
2. JUSTIFICACIÓN	31
3. HIPÓTESIS.....	33
4. OBJETIVOS	33
4.1 Objetivo general.....	33
4.2 Objetivos particulares	33
5. MÉTODO.....	34
5.1 Animales	34
5.2 Fármacos	34
5.3 Condicionamiento de Preferencia de Sitio	34
5.4 Grupos experimentales.....	38
5.5 Análisis estadístico de datos	39

6. RESULTADOS	40
7. DISCUSIÓN.....	43
8. CONCLUSIONES	46
9. PERSPECTIVAS A FUTURO	47
10. ANEXO.....	48
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

RESUMEN

La adicción se considera un grave problema de salud pública mundial. Se define como una enfermedad cerebral crónica, caracterizada por la búsqueda y uso compulsivo de una droga, el surgimiento de un estado emocional nocivo cuando se impide el acceso a dicha droga y la pérdida de control para la limitación de su consumo, que involucra la alteración de los circuitos motivacionales del cerebro.

Entre los principales fármacos con potencial adictivo se encuentran las anfetaminas, que son drogas sintéticas similares estructuralmente a la adrenalina y otras catecolaminas. Su estructura les permite unirse directamente a los receptores de monoamina debido a la similitud estructural con aminos endógenas y desencadenando sus efectos psicoestimulantes.

Para generar conocimiento acerca de las bases biológicas de los procesos adictivos, así como para identificar nuevas dianas terapéuticas que permitan desarrollar futuros tratamientos para la adicción, se emplean modelos animales, entre ellos, el Condicionamiento de Preferencia de Sitio (CPS), que es un paradigma utilizado para evaluar varios aspectos de los comportamientos adictivos, como la tolerancia, sensibilización y efectos de refuerzo en drogas psicoactivas. Este modelo se basa en el aprendizaje asociativo entre las claves ambientales del lugar donde el animal recibe la droga (luz, color, textura del suelo) y el efecto reforzante que esta produce.

Hasta este momento, algunos fármacos betalactámicos han sido probados para el tratamiento de adicciones. Adicionando su actividad como antibióticos, se ha encontrado que ejercen efectos neuroprotectores en diversas patologías. En este trabajo, se buscó un cambio de conducta de preferencia a anfetaminas en un modelo murino tras la administración de ceftriaxona, uno de los betalactámicos más utilizados y cefalotina, antibiótico que comparte anillo betalactámico con la ceftriaxona, pero que no había sido probado anteriormente en modelos animales de adicción.

Nuestros resultados conductuales muestran una disminución de la recompensa inducida por anfetaminas en un modelo de preferencia de sitio ocasionada por la previa administración de fármacos betalactámicos.

Se muestra por primera vez el potencial efecto neuroprotector de la cefalotina en un modelo de condicionamiento de preferencia de sitio a anfetaminas en ratas. Estos datos pueden dar paso a la ampliación de la línea de investigación.

PALABRAS CLAVE:

Anfetamina, adicción, betalactámicos, Condicionamiento de Preferencia de Sitio

LISTA DE ABREVIATURAS

NAc: Núcleo Accumbens

Hc: Hipocampo

VTA: Área Ventral Tegmental (Ventral Tegmental Area, por sus siglas en inglés)

PFC: Corteza Prefrontal (Prefrontal Cortex, por sus siglas en inglés)

AMG: Amígdala

DA: Dopamina

DAT: Transportador de dopamina

NET: Transportador de norepinefrina

SERT: Transportador de serotonina

Na⁺: Ion sodio

Ca²⁺: Ion calcio

Mg²⁺: Ion magnesio

AMPA: Receptor de ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico

NMDA: Receptor de N-metil-D-aspartato

CaMKII: Proteína cinasa II dependiente de calcio/ calmodulina

EPSP: Potencial postsináptico excitador

CPS: Condicionamiento de Preferencia de Sitio

IP: Intraperitoneal (vía de administración)

AMP: Anfetamina

CTX: Ceftriaxona

CEF: Cefalotina

GLT-1: Transportador de glutamato 1

PLP: Potenciación a Largo Plazo

OMS: Organismo Mundial de la Salud

NOM: Norma Oficial Mexicana

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Adicción

A pesar de ser una palabra de uso común, el concepto de adicción es difícil de delimitar. El término es mayormente aceptado como sinónimo de dependencia a sustancias; sin embargo, se ha descrito otro tipo de procesos que inducen adicción. Por ejemplo, la última edición del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-5) dedica una sección al juego patológico debido a que existe evidencia de la semejanza conductual con el trastorno de uso de sustancias. Por otro lado, a pesar de que no existe aún una referencia clínica de adicción a conductas tales como el sexo, el ejercicio, el consumo de comida altamente calórica o las compras, es ampliamente conocido que todas estas involucran el mismo mecanismo que se ha probado como indispensable para el desarrollo de esta patología. La adicción, por lo tanto, se define como una enfermedad crónica y recidivante del sistema nervioso que se desarrolla por el consumo de alguna sustancia o por llevar a cabo alguna actividad que genere reforzamiento en el sistema de recompensa del ser humano (Volkow & Morales, 2015).

No obstante, la investigación que se ha llevado a cabo acerca de los procesos adictivos se ha concentrado más en la adicción a fármacos. Ésta se caracteriza por la búsqueda y uso compulsivo de una droga, el surgimiento de un estado emocional nocivo cuando se impide el acceso a dicha droga y la pérdida de control para la limitación de su consumo (García, *et al.*, 2017; Koob & Volkow, 2010). Además, tal y como se describió previamente, involucra una alteración en los circuitos motivacionales del cerebro (Koob & Volkow 2016).

La OMS ha descrito dos características conductuales fundamentales para el diagnóstico de una adicción: impulsividad y compulsividad.

La impulsividad es una predisposición hacia reacciones rápidas y no planificadas a estímulos internos o externos. Se caracteriza por la incapacidad para resistir los instintos, toma de decisiones irreflexiva y valoración de recompensas inmediatas sobre objetivos a largo plazo (Berlin & Hollander, 2013). Por otro lado, la compulsividad es la tendencia a realizar actos repetitivos desagradables de manera habitual o estereotipada para evitar consecuencias negativas percibidas, que conducen a un deterioro funcional (Fineberg *et al.* 2009).

Además de las graves repercusiones biológicas que representa, el abuso de sustancias genera pérdidas económicas significativas. Estas pérdidas engloban los costos de atención médica, pérdida de productividad, delincuencia asociada a la venta de la droga y falta de bienestar social. Dentro de los costos de atención médica se encuentran aquellos recursos destinados a la prevención, tratamiento y rehabilitación, la atención a pacientes con sobredosis, episodios psicóticos, reacciones adversas o síntomas de enfermedades infecciosas transmisibles mediante el uso de drogas inyectables, como VIH/SIDA, hepatitis B y C, tuberculosis, entre otras (International Narcotics Control Board [INCB], 2013).

1.1.1 Etapas de la adicción

Koob y Le Moal (1997) han conceptualizado el proceso adictivo como un ciclo compuesto por tres etapas: intoxicación, abstinencia y anticipación.

Se conoce como intoxicación a aquel evento que ocurre cuando al consumir una sustancia se da una activación del circuito de recompensa que produce un estado hedónico, aumentando la probabilidad de repetir la conducta de consumir la sustancia. A esto se le conoce también como reforzamiento positivo (Koob, Arends & Le Moal, 2014). Por otro lado, la abstinencia se define como un estado de ánimo negativo en ausencia del fármaco al que se es adicto y se presenta cuando se consume una droga para evitar el desagrado (caracterizado por disforia, ansiedad e irritabilidad), así como los efectos fisiológicos (temblor, taquicardia) que surgen cuando se impide el acceso a dicha droga (Koob & Simon, 2009). Por último, la anticipación, también llamada “*craving*”, implica un comportamiento compulsivo de búsqueda de la sustancia adictiva y un deseo imperioso para obtenerla (Koob, 2013).

Cada etapa está particularmente asociada a una región cerebral distinta (**Figura 1**). La etapa de intoxicación involucra en gran medida los ganglios basales, los cuales están asociados con el control motor voluntario, el aprendizaje de procedimientos relacionados con comportamientos o hábitos de rutina y la selección de acciones. Los ganglios basales incluyen estructuras como el cuerpo estriado, globo pálido, sustancia negra y núcleo subtalámico (Koob, Arends & Le Moal, 2014).

La etapa de abstinencia involucra regiones de la amígdala extendida, la cual incluye componentes principales de los síntomas de estrés cerebral asociados con el refuerzo negativo de la dependencia. La etapa de anticipación involucra elementos de la corteza prefrontal, estructura encargada de mediar la capacidad de organizar pensamientos y actividades, priorizar tareas, administrar el tiempo y tomar decisiones (Koob, Arends & Le Moal, 2014).

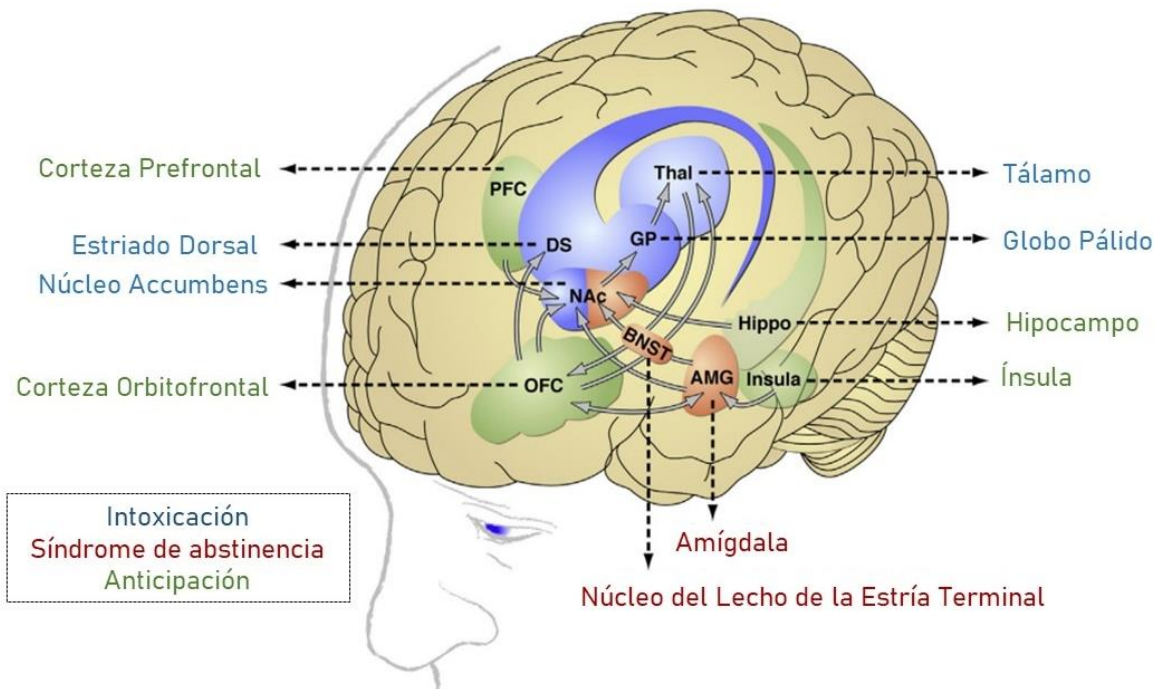


Figura 1. Principales regiones cerebrales implicadas en las etapas del ciclo de la adicción. Las áreas relacionadas con la Intoxicación se encuentran de color azul, aquellas relacionadas con el Síndrome de Abstinencia están en rojo y las relacionadas con Anticipación están de color verde. [Modificada de Koob, Arends & Le Moal, 2014]

Esta serie de características colocan el tema de las adicciones como un preponderante para tomar en cuenta con relación a la salud pública, ya que se ha convertido en un problema a nivel mundial como se describe en las siguientes líneas.

1.1.2 Incidencia a nivel nacional e internacional

Según el último Informe Mundial sobre las Drogas de la Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC, 2020), aproximadamente 269 millones de personas de edades comprendidas entre los 15 y 64 años utilizaron sustancias ilícitas en 2018. El problema de este consumo, independientemente del hecho de la ilegalidad, estriba en que hasta el 13% de los usuarios podrían desarrollar padecimientos relacionados con el abuso de estas sustancias tales como la adicción. De hecho, esta condición es tan importante que aproximadamente 585,000 muertes fueron atribuidas al consumo de drogas en 2017 (UNODC, 2020).

Debido a lo anterior, las adicciones se consideran un grave riesgo para la salud a nivel mundial.

De entre las sustancias de abuso, de acuerdo con la estimación más reciente, la droga con mayor número de consumidores es la marihuana (192 millones), seguida por los opioides (58 millones) y, en tercer lugar, las anfetaminas y estimulantes sujetos a prescripción médica (27 millones) (UNODC, 2020). Por otra parte, el consumo y tráfico de anfetaminas y metanfetaminas está aumentando en regiones de América del Norte, Oceanía y gran parte de Asia (UNODC, 2020).

En México, los datos recabados en la Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco (ENCODAT, 2016-2017) señalan una tendencia al incremento de la prevalencia del consumo de cualquier droga alguna vez en la vida, de 7.8% en 2011 a 10.3% en 2016, en la población mexicana de entre 12 y 65 años. Con respecto al consumo de drogas ilegales en el último año, también se observó un crecimiento significativo de 1.4% en 2011 a 2.7% en 2016, en la misma población. (CONADIC, 2019).

En 2018, la principal droga de impacto (aquella que el paciente identificó con mayor capacidad para producirle efectos negativos de cualquier índole, así como el motivo principal de la demanda de servicio en instituciones de rehabilitación) fueron los estimulantes de tipo anfetamínico (33.5%), seguidos del alcohol (27.4%), la cocaína (10.4%) y la marihuana (10.2%) (CONADIC, 2019).

1.1.3 Sustancias de abuso

Una de las características de los fármacos adictivos es su capacidad para actuar como reforzadores (Sanchis-Segura & Spanagel, 2006). Un refuerzo o reforzador es un estímulo que aumenta la probabilidad de una respuesta (US Department of Health and Human Services [HHS], 2016) y puede ser positivo o negativo.

El refuerzo es positivo cuando una conducta produce un estímulo placentero, que refuerza la repetición de la conducta. El refuerzo es negativo cuando una conducta elimina o impide un estímulo adverso, lo que, a su vez, incrementa la posibilidad de que esta conducta vuelva a ocurrir (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2005). Esta característica les permite promover patrones de comportamiento que favorezcan un mayor consumo del fármaco.

Otra característica presente tanto en los fármacos adictivos como en drogas empleadas terapéuticamente durante un periodo prolongado es la tolerancia. Esta se define como una adaptación fisiológica a la presencia de un fármaco en el cuerpo, de tal forma que se requieren dosis mayores para producir los efectos farmacológicos que resultaban inicialmente de dosis más pequeñas (Savage *et al.*, 2003).

Cabe mencionar que existen muchas sustancias capaces de generar adicción. Dichas sustancias han sido clasificadas de acuerdo con diversos criterios, sin embargo, ninguno es considerado como definitivo, puesto que un mismo fármaco puede incorporarse de manera diferente en dos sistemas o dos sistemas pueden usar categorías con el mismo nombre (Kidra, 2020).

Una de las clasificaciones más empleadas es aquella que las divide en fármacos legales e ilegales. Dentro de las sustancias legales se encuentran el alcohol, la nicotina o medicamentos normalmente prescritos (como la morfina y las benzodiazepinas) y dentro de las sustancias ilegales, drogas como la heroína, la cocaína y las anfetaminas (Baz-Lomba *et al.* 2016).

Por otra parte, Sateler *et al.* (2019) clasifican a las sustancias ilegales según sus efectos dentro del Sistema Nervioso Central en depresoras, cuando causan relajación, sedación y somnolencia; estimulantes, cuando producen euforia e incluso irritabilidad; alucinógenas, cuando perturban la percepción e inducen alucinaciones y sustancias con efectos tanto estimulantes, como alucinógenos (**Tabla 1**). Este trabajo se enfocará en las anfetaminas, sustancias de tipo estimulante que pueden ser legales o ilegales.

Tabla 1. Clasificación de fármacos de abuso ilegales según su efecto sobre el sistema nervioso central. [Modificada de Sateler *et al.*, 2019].

Sustancias depresoras	Sustancias estimulantes	Sustancias alucinógenas	Sustancias estimulante- alucinógenas
Fentanilo Heroína Marihuana	Cocaína Anfetaminas	LSD Mescalina	MDMA Catinonas sintéticas

1.1.4 Estimulantes

Los estimulantes son fármacos que producen una activación conductual generalmente acompañada de aumento en la excitación, el estado de alerta y la actividad motora (Koob, Arends & Le Moal, 2005). Abarcan una amplia categoría de sustancias, incluidas las recetadas para afecciones médicas, aquellas ilícitas con potencial adictivo, extractos de hierbas, bebidas con cafeína y cigarrillos (Preda, 2018).

Koob & Le Moal clasifican a los estimulantes según su mecanismo de acción en simpaticomiméticos directos o indirectos y no simpaticomiméticos (**Tabla 2**). Los simpaticomiméticos imitan la acción del sistema nervioso simpático cuando se activa. De hecho, el término *simpatina* se usó originalmente para describir la hormona noradrenalina que se encuentra en el sistema nervioso central. Por tanto, los fármacos simpaticomiméticos imitan las acciones periféricas de la noradrenalina en el sistema autónomo y neurofarmacológicamente activan directa o indirectamente los receptores de esta monoamina. Los no simpaticomiméticos actúan a través de diferentes mecanismos neurofarmacológicos en conjunto (Koob & Le Moal, 2005).

Tabla 2. Clasificación de Sustancias Estimulantes Psicomotoras. [Tomada y modificada de Koob & Le Moal, 2006]

Simpaticomiméticos directos	Simpaticomiméticos indirectos	No Simpaticomiméticos
Isoproterenol	Anfetamina	Cafeína
Epinefrina	Metanfetamina	Nicotina
Noradrenalina	Cocaína	
Fenilefrina	Metilfenidato	

1.2 Anfetaminas

Las anfetaminas son un grupo de sustancias compuesto por moléculas con un efecto estimulante elaboradas de manera sintética, que incluyen a la anfetamina, metanfetamina, metcatinona y sustancias del grupo del éxtasis (por ejemplo, MDMA y análogos sintéticos; UNODC, 2018). El término anfetamina se origina del nombre químico α -metilfenetilamina e incluye dextroanfetamina (d-anfetamina) y levoanfetamina (l-anfetamina) (Koob & Le Moal, 2014). Este grupo se cataloga como aminas simpaticomiméticas debido a su similitud estructural y funcional con aminas endógenas tales como la adrenalina y otras catecolaminas (**Figura 2**). Sus características moleculares les permiten unirse y activar a los receptores endógenos de estos neurotransmisores del organismo. Esta unión desencadena los efectos específicos reconocidos de este tipo de moléculas tales como la supresión del apetito, dilatación de las pupilas (midriasis), sequedad de la boca, sudoración, temblor, tensión mandibular (trismo), rechinado de dientes (bruxismo), incremento de la temperatura corporal (hipertermia), aumento de la presión arterial, aumento de la frecuencia cardiaca (taquicardia), sensación de alerta, euforia, disminución del cansancio, mayor resistencia física y mejoría del rendimiento intelectual a corto plazo (Mannan, 2018, Simola & Carta, 2016).

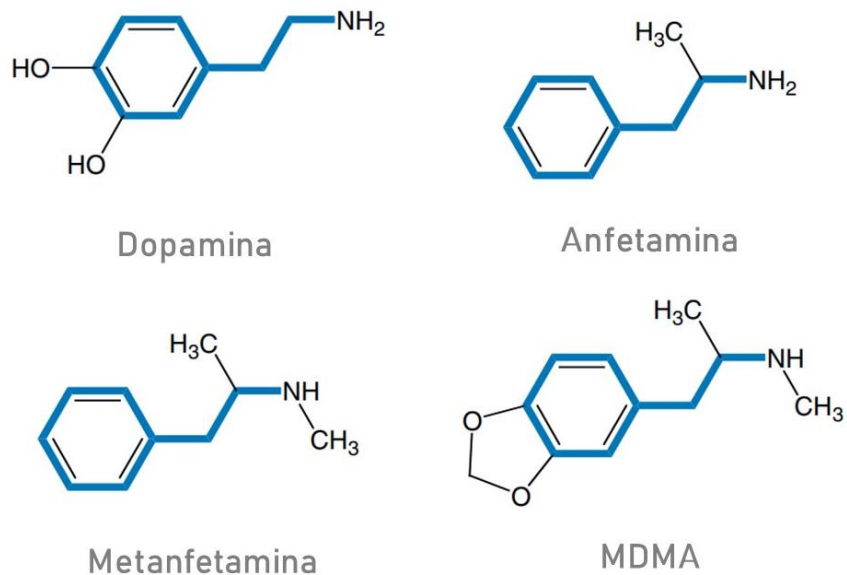


Figura 2. Estructuras químicas del neurotransmisor monoaminérgico endógeno dopamina y tres de los estimulantes de tipo anfetamínico más comunes. Se observa en azul el anillo de fenilo no sustituido unido con una cadena lateral de dos carbonos entre el anillo de fenilo y un nitrógeno. [Modificada de Fleckenstein et al., 2007]

Tal y como ocurre con otras moléculas adictivas, la naturaleza de los efectos de las anfetaminas depende de la vía de administración. Este grupo de fármacos se puede administrar por vía oral, intravenosa, e incluso pueden ser fumadas o aspiradas. (Koob, 2015). Del mismo modo, también de esto depende la intoxicación propia de estas moléculas ya que los niveles séricos también son afectados por la vía de administración (APA, 2014; Boutrel & Koob. 2010). Por otro lado, el uso particular de este tipo de fármaco ha sido influido por la cultura popular, particularmente por la serie televisiva “Breaking Bad”, lo cual ha aumentado los efectos adversos inducidos por las anfetaminas. Esto se debe, en parte, al hecho de que se utilizan otras moléculas para cambiar el color de las anfetaminas para caracterizarla como en la serie (Johnson, Stollings & Ely, 2017).

1.2.1 Usos clínicos de las anfetaminas

Originalmente, las anfetaminas se sintetizaron como posibles medicamentos alternativos para el tratamiento del asma, siendo el componente principal del inhalador de benzedrina original (Koob & Le Moal, 2006). Si bien demostró ser eficaz, su uso constante condujo a un abuso y en muchos casos, causó toxicidad cardiovascular (Iversen, 2008).

Por otra parte, fueron empleadas por el ejército durante la Segunda Guerra Mundial como fármacos antifatiga (Heal *et al.* 2013), por choferes de vehículos de carga, médicos, estudiantes en época de exámenes por sus efectos promotores de la vigilia y mejora de la concentración y por atletas para aumentar su resistencia física (Iversen, 2008).

Actualmente, las anfetaminas están legalmente disponibles para uso médico como complementos para el control de peso a corto plazo y como tratamiento de síntomas para la narcolepsia y el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) (Boutrel & Koob, 2004).

La fisiopatología de un proceso adictivo a fármacos es muy compleja ya que involucra la alteración de la función de un sistema fundamental para la vida, conocido como sistema de motivación y recompensa, descrito originalmente en 1954 por Olds y Milner. En su trabajo, los investigadores implantaron un electrodo en ratas para estimular eléctricamente ciertas zonas cerebrales. Dentro de su modelo, la rata oprimía una palanca que activaba un interruptor que les permitía autoestimularse a través del electrodo, y era capaz de hacerlo casi 2 mil veces en 1 hora, ignorando otros estímulos como comida, agua o sexo (Olds & Milner, 1954).

1.3 Sistema de Recompensa

Al llevar a cabo una actividad placentera como escuchar música, pasar tiempo con la persona amada o comer algo delicioso, se producen estímulos externos que son procesados por diversas áreas cerebrales (las cortezas auditiva, visual, somatosensorial, entre otras) y convergen en un sitio cerebral constituido por neuronas dopaminérgicas, llamado Área Ventral Tegmental (VTA) (Blood & Zatorre, 2001; Aron *et al.*, 2005; Alonso-Alonso *et al.*, 2015).

Estas neuronas del VTA proyectan hacia importantes estructuras de integración límbicas y corticales, en donde se asigna la relevancia del estímulo (**Figura 3**). Entre dichos núcleos se encuentran la corteza prefrontal (PFC), el hipocampo (Hc), la amígdala (AMG) y el núcleo accumbens (NAc). (Arias-Carrión *et al.*, 2010). Cabe señalar que no son las únicas vías dopaminérgicas en el cerebro, pero sí las importantes para el sistema de motivación y recompensa.

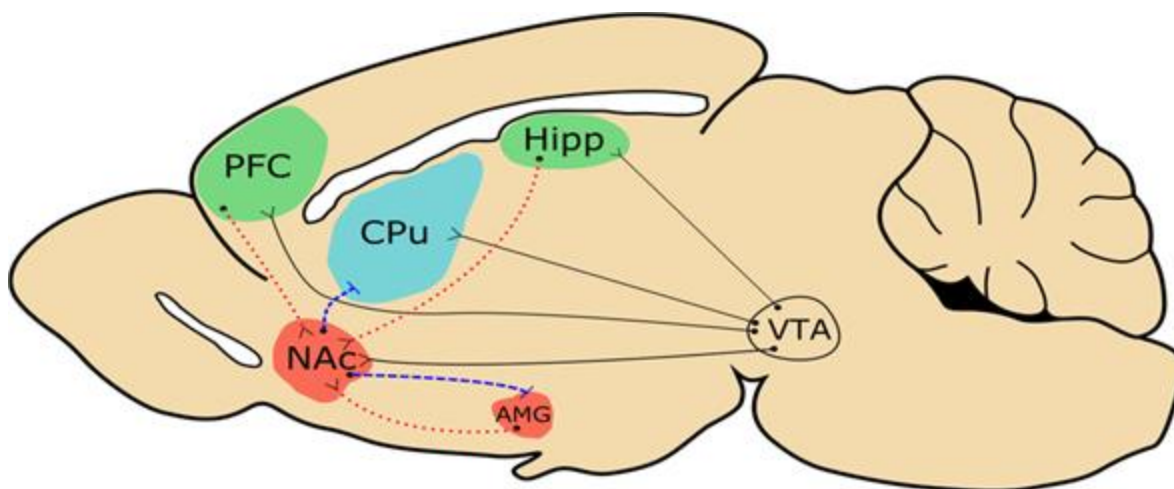


Figura 3. Vía mesocorticolímbica simplificada en el cerebro de roedores. Las neuronas del Área Ventral Tegmental (VTA) proyectan dopamina al núcleo accumbens (NAc) y a la amígdala (AMG), constituyendo la vía mesolímbica. Asimismo, estas neuronas proyectan a la corteza prefrontal (PFC) constituyendo la vía mesocortical. Las líneas negras representan proyecciones dopaminérgicas, las líneas azules rayadas representan proyecciones GABAérgicas y las líneas rojas punteadas representan proyecciones glutamatérgicas. CPu= caudado putamen, Hipp= hipocampo [Tomada de Vaillancourt *et al.*, 2017].

Los núcleos cerebrales mencionados anteriormente, integran la información ambiental proveniente de diferentes sustancias o eventos que son conocidos como reforzadores naturales, tales como la comida, el agua, o la conducta sexual, debido a que responden a necesidades homeostáticas (Keramati & Gutkin, 2014). La sensación placentera producida al llevar a cabo estas conductas brinda una motivación para repetirlos. De esta manera, se preserva la integridad anatómico-funcional y, por ende, la supervivencia de nuestra especie (Méndez- Díaz *et al.*, 2010).

Las sustancias de abuso, al igual que los reforzadores naturales, actúan sobre el sistema mesocorticolímbico, también llamado sistema de recompensa (Adinoff, 2004); sin embargo, no contribuyen a la homeostasia del sistema, sino que lo alteran produciendo efectos eufóricos intensos y duraderos, mismos que constituyen el “high” buscado por las personas adictas. Algunos fármacos adictivos activan estos mecanismos de recompensa directamente y otros indirectamente, dependiendo de su mecanismo de acción (Gardner, 2005).

Las proyecciones dopaminérgicas más importantes del VTA son hacia la amígdala, en donde se evalúa el valor emocional de los estímulos sensoriales (Fudge & Emiliano, 2003), el hipocampo, área que detecta información nueva y facilita la codificación y consolidación de memorias (Lisman & Grace, 2005), la corteza prefrontal, sitio encargado de mediar funciones intelectuales o ejecutivas, en donde ocurre la planeación de actos secuenciales hacia un objetivo (Fuster, 2001) y el núcleo accumbens, región clave que recibe e integra las señales emocionales y motivacionales que ayudan a regular la producción conductual (Yu *et al.*, 2019).

1.3.1 Alteraciones generales en el sistema de recompensa inducidas por fármacos

Las propiedades reforzantes de las sustancias de abuso se han asociado con su capacidad para incrementar los niveles de dopamina en el estriado ventral, particularmente en el NAc (Di Chiara & Bassareo, 2007). La actividad farmacológica de dichas sustancias utiliza las mismas vías mesocorticolímbicas sobre las cuales operan los reforzadores naturales, tales como el agua, el alimento y el sexo, generando un efecto hedónico que promueve la búsqueda de la sustancia de abuso por sus efectos (reforzamiento positivo) (Koob & Volkow, 2010).

Además del sistema dopaminérgico, otros sistemas se ven involucrados, como el glutamatérgico, que proyecta de la CPF al NAc y se ha sugerido que participa en la regulación de la motivación (Kalivas & Volkow, 2005). De hecho, la participación del sistema glutamatérgico ha sido reconocida como una de las más importantes ya que, aparentemente, uno de los mecanismos fundamentales para el establecimiento de la adicción es una potenciación a largo plazo, evento que se describe a continuación.

En condiciones homeostáticas, la concentración de glutamato en el espacio sináptico se regula a través de su metabolismo. Este depende, particularmente, de la presencia de transportadores de glutamato conocidos como EAAT2 en el humano o GLT1 en roedores. Estos transportadores son responsables de hasta el 90% de la recaptura de glutamato a los astrocitos (Bridges y Esslinger, 2005). Una vez dentro del astrocito, el glutamato se metaboliza por medio de una molécula conocida como glutamina-sintetasa, transformándose en glutamina y perdiendo su potencial excitador.

En condiciones patológicas o en presencia de fármacos con potencial adictivo, esta regulación se afecta causando una cascada de procesos que, a la larga, permiten la facilitación de la transmisión de los estímulos en diversas áreas, particularmente el NAc (Scofield *et al.*, 2016) y el hipocampo (Kutlu & Gould, 2016). Este proceso inicia cuando, por la actividad de un fármaco como la anfetamina, la liberación de glutamato y la actividad neuroglial se ven alterados por un aumento de la concentración de glutamato en el espacio sináptico, una menor cantidad de transportadores GLT1 en los astrocitos perisinápticos y una hiperreactividad glial (Scofield *et al.*, 2016). Esto, a su vez, altera las concentraciones de factores proinflamatorios tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) o la interleucina 1 beta (IL-1 β), llegando a convertirse en un proceso crónico conocido como potenciación a largo plazo (Ramirez & Arbuckle, 2016).

1.3.3 Alteraciones del sistema de recompensa inducidas por anfetaminas

Al igual que otros fármacos, las anfetaminas ejercen sus efectos recompensantes al elevar los niveles extracelulares de monoaminas (Mauna *et al.*, 2019). Sin embargo, consta de tres mecanismos de acción (**Figura 4**). El primero consiste en inhibir competitivamente la recaptación de monoaminas (dopamina, serotonina y noradrenalina, principalmente) (Boutrel & Koob, 2004; Fernández- Espejo, 2006). El segundo mecanismo, facilita el movimiento de dopamina y otras monoaminas fuera de las vesículas de almacenamiento, hacia el citoplasma, invirtiendo el flujo normal del transportador vesicular de monoaminas VMAT2 (Robledo, 2008; Sitte & Freissmuth, 2015). El tercer mecanismo, promueve el transporte inverso (salida) de monoaminas, utilizando sus transportadores de la membrana plasmática DAT, SERT y NET (Robertson, Matthies & Galli 2009; Calipari & Ferris, 2013).

Además de lo mencionado anteriormente, algunos estudios han encontrado que las anfetaminas actúan como inhibidores competitivos de las monoaminooxidasas (MAOs), disminuyendo la degradación de monoaminas al inhibir a la enzima Monoaminooxidasa A. (Cao *et al.*, 2016; Sulzer *et al.*, 2005) Como resultado del aumento de monoaminas en el espacio sináptico también se alteran las concentraciones de otros neurotransmisores como el glutamato y pueden, a la larga, aumentar la reactividad glial (Kish *et al.*, 2017).

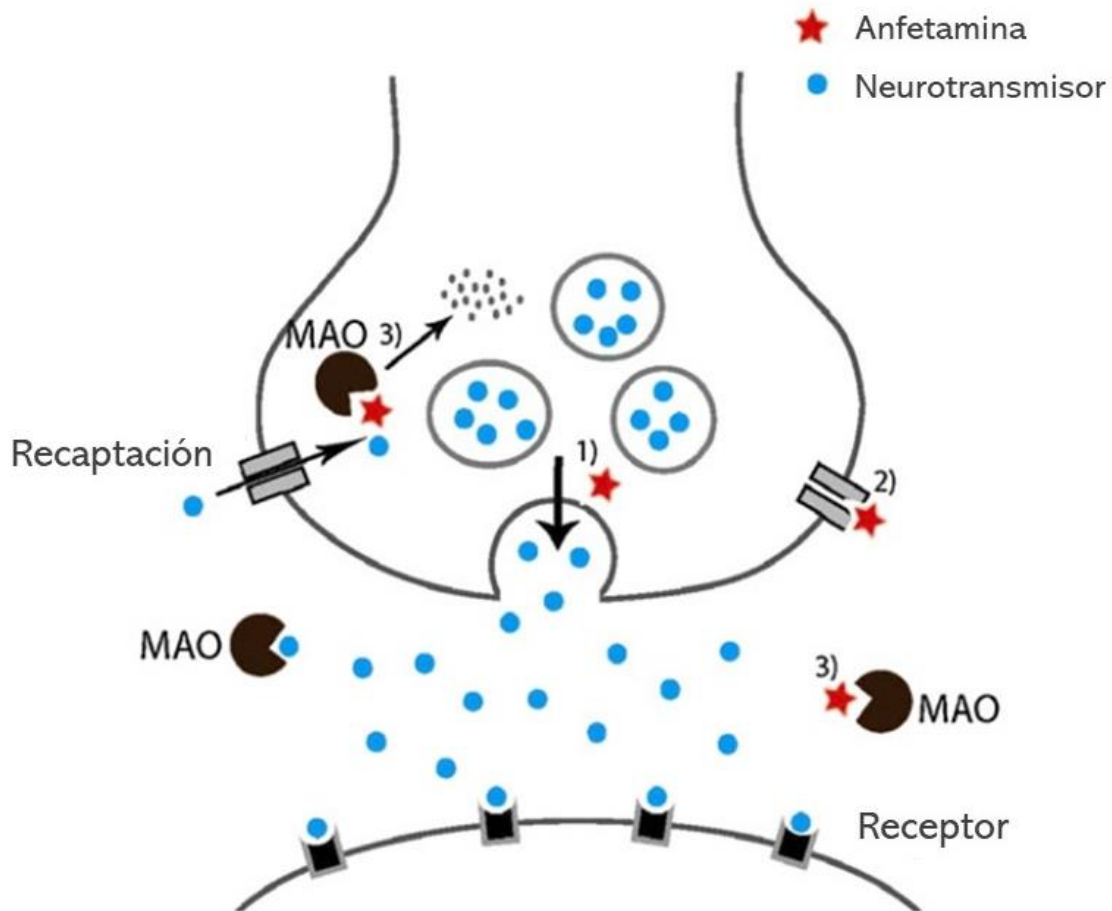


Figura 4. Mecanismos de acción de las anfetaminas. La anfetamina (1) revierte la acción de los transportadores del neurotransmisor, lo que conduce a la liberación presináptica; (2) bloquea competitivamente la recaptación del neurotransmisor e (3) inhibe la degradación enzimática del neurotransmisor [Modificada de Häggkvist & Frank, 2003].

Por otra parte, los mecanismos moleculares responsables del flujo de salida de DA por las anfetaminas han sido objeto de una intensa investigación, pero aún no se comprenden completamente (Mauna *et al.*, 2019). Varias proteínas interactúan y regulan el flujo de salida de DA a través de DAT. Entre ellas se encuentra la proteína cinasa C (PKC), la proteína cinasa II dependiente de Ca²⁺/ calmodulina (CAMKII) y la syntaxina 1A.

La anfetamina es metabolizada por vía hepática, donde es desaminada y convertida en fenilacetona, posteriormente oxidada a ácido benzoico y finalmente excretada en forma de glucurónida o conjugados de glicina (Koob & Le Moal, 2006).

1.3.3 Alternativas terapéuticas y presentación del problema

Dentro de los distintos mecanismos fisiopatológicos que se han reconocido como involucrados en el desarrollo de la adicción, actualmente sabemos que ésta inicia con la liberación de dopamina del área ventral tegmental (Koob & Volkow, 2016). Esta liberación se debe principalmente a una inhibición de las interneuronas gabaérgicas que proyectan sobre las neuronas dopaminérgicas en el VTA inducida por la activación de receptores tipo Gi (MacNicol, 2017). Una vez liberada, la DA se une a sus receptores D1 y D2 en el NAc (Steinberg *et al.*, 2014). La perpetuación del círculo vicioso inducido por una baja cantidad de DA en ausencia de la sustancia adictiva, y el reforzamiento y posterior disminución de DA generada por la misma sustancia es la base fundamental del proceso de adicción (Koob & Volkow, 2016).

A pesar de que por mucho tiempo la búsqueda de tratamiento para las adicciones ha estado dirigido particularmente a la respuesta dopaminérgica, en tiempos recientes se ha buscado incidir en el proceso glutamatérgico y la respuesta neuroinmunológica secundaria a este (Moussawi y Kalivas, 2010).

Un factor común que se ha descrito, y que podría estar involucrado en el proceso, es la disminución en la concentración de un grupo de transportadores de glutamato astrocíticos conocido como GLT1 (Bechard & Knackstedt, 2019). Debido a esto se han buscado alternativas terapéuticas que puedan aumentar la concentración de estos transportadores para evitar alguno de los procesos relacionados con la adicción.

Los modelos animales de adicción se han utilizado ampliamente para investigar las neuroadaptaciones que median la búsqueda prolongada y persistente de drogas. Los estudios preclínicos han implicado a la neuroplasticidad glutamatérgica en la adicción (con una importancia específica puesta en el papel del NAc) (Bechard & Knackstedt, 2019).

1.4 Moléculas betalactámicas

Los betalactámicos son una familia de fármacos conocida principalmente por su uso clínico como antibióticos. Son compuestos de acción bactericida lenta, dependiente del tiempo, con escasa toxicidad y amplio margen terapéutico (Núñez *et al.*, 2006). El representante principal y más conocido por el impacto que tuvo su descubrimiento y posterior uso medicinal es la penicilina. Esta molécula ha sido fundamental para la mejora de la salud pública y la expectativa de vida desde mediados del siglo XX (Poole 1944; Demain y Sánchez 2009; Kardos y Demain 2011).

1.4.1 Farmacología general de las moléculas betalactámicas

El metabolismo de la mayoría de los betalactámicos es casi nulo; se mantienen en forma activa hasta su eliminación renal mediante filtrado glomerular y secreción tubular. Muy pocos de los betalactámicos experimentan algún tipo de metabolismo antes de su eliminación, como la desacetilación (en el caso de la cefalotina o de la cefotaxima) (Suárez & Gudiol, 2009).

Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana, interfiriendo en la síntesis del peptidoglicano mediante un bloqueo en la última etapa de su producción (transpeptidación) (Gómez, García-Vázquez & Hernández-Torres, 2015). Para más información consultar ANEXO.

1.4.2 Tipos de betalactámicos

Esta familia de fármacos se caracteriza por tener dentro de su estructura química un grupo funcional conocido como anillo betalactámico, mismo que actúa como farmacóforo (Ochoa-Aguilar *et al.*, 2016). No obstante, para que el betalactámico sea activo, es preciso que esté unido a otros radicales, habitualmente anillos. La asociación de diferentes cadenas junto con el núcleo formado por dos anillos modifica las propiedades del compuesto resultante, dando lugar a al menos 5 subfamilias: las penicilinas, como la penicilina y la amoxicilina; las cefalosporinas, como la ceftriaxona (CTX); los carbapenémicos, los monobactámicos y los bloqueadores de la actividad de las betalactamasas, como el sulbactam y el ácido clavulánico. (**Figura 5**)

Dentro de cada grupo, pequeñas alteraciones en la estructura química son capaces de modificar las características del antibiótico, como el espectro, la afinidad por determinados receptores o la resistencia a las betalactamasas. (Marín & Gudiol, 2003; Suárez & Gudiol, 2009)

Anillo betalactámico	+	Anillo secundario	=	Núcleo del betalactámico	→	GRUPO ANTIBIÓTICO
		Anillo tiazolidínico		Ácido 6-aminopenicilánico		PENICILINAS
		Anillo dihidrotiacínico		Ácido 7 α -cefalosporínico		CEFALOSPORINAS
		Anillo pirrolínico		Carbapenemo		CARBAPENEMAS
		Ninguno		Monobactamo		MONOBACTÁMICOS
		Anillo oxazolidínico		Clavamo/oxapenamo		ÁCIDO CLAVULÁNICO

Figura 5. Estructura química de los betalactámicos. El anillo betalactámico, que consiste en un anillo heterocíclico de cuatro átomos (tres de carbono y uno de nitrógeno), forma parte de la estructura de las cinco familias de antibióticos. [Modificada de Suárez & Gudiol, 2009]

1.4.3 Funciones neuroinmoduladoras de los betalactámicos

Además de los efectos antibióticos, se ha encontrado que los betalactámicos en su conjunto tienen efectos pleiotrópicos. Inicialmente, esto se demostró por Rothstein y cols. (2005) cuando administraron 1040 fármacos diferentes aprobados por la FDA en cultivos celulares de astrocitos humanos y murinos en busca de una elevación del transportador GLT1. Este grupo encontró que la administración de moléculas con anillo betalactámico aumentaba la expresión de ese transportador hasta 3 veces, además de ofrecer neuroprotección ante la excitotoxicidad inducida por glutamato.

El glutamato es el principal neurotransmisor excitador del sistema nervioso central de los mamíferos y está involucrado en varios procesos fisiológicos como la memoria o el aprendizaje. Los niveles excesivos de este aminoácido en la sinapsis provocan la muerte neuronal por excitotoxicidad, que está implicada en muchas condiciones patológicas como epilepsia, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), entre otras (Konaklieva *et al.*, 2009; O'Donovan, 2017). Su metabolismo depende de su eliminación de la hendidura sináptica por los astrocitos y su transformación en glutamina mediante los transportadores de glutamato. Aunque existen varios transportadores de glutamato, tanto en el sistema nervioso central como en el periférico, los más importantes son GLT1 / EAAT2, GLAST y EAAT1 que combinados son responsables de más del 95% de la captación de glutamato en el cerebro; y su disfunción está implicada en varias enfermedades (Ochoa-Aguilar *et al.*, 2017).

En estudios posteriores se estudiaron los efectos neuroprotectores brindados por la ceftriaxona para aliviar los síntomas de diferentes trastornos neurológicos inducidos experimentalmente, tales como la enfermedad de Parkinson (Bisht *et al.*, 2014), enfermedad de Alzheimer (Zumkehr *et al.*, 2015), enfermedad de Huntington (Sari *et al.*, 2010), esclerosis lateral amiotrófica (Cudkowicz *et al.*, 2014), isquemia cerebral (Hu *et al.*, 2015), lesiones cerebrales traumáticas (Cui *et al.*, 2015) y dolor neuropático (Hu *et al.*, 2010). También se encontró que la ceftriaxona podía retrasar la pérdida de neuronas motoras y fuerza muscular, así como prolongar la vida útil, en un modelo murino de atrofia muscular espinal (Nizzardo *et al.*, 2011).

Aunque la mayor parte de la investigación se ha centrado en los efectos de la ceftriaxona, otros betalactámicos también han mostrado capacidad neuroprotectora (Ochoa-Aguilar *et al.*, 2017); tal es el caso del ácido clavulánico (Huh *et al.*, 2010), la ampicilina (Lee *et al.*, 2008) y el sulbactam (Cui *et al.*, 2014).

1.4.4 Efecto de betalactamas en adicciones a otras moléculas

La ceftriaxona (CTX) es una cefalosporina de tercera generación, perteneciente al grupo de los antibióticos betalactámicos, y es el fármaco más utilizado para las infecciones locales (infecciones de piel y tejidos blandos), así como sistémicas, comunitarias y hospitalarias (Pinto-Pereira *et al.*, 2004).

Recientemente, en estudios preclínicos se ha resaltado la eficacia terapéutica de la CTX contra varios trastornos neurológicos, dependencia de drogas y síndrome de abstinencia, así como su potencial neuroprotector contra varios químicos neurotóxicos (Yimer, Hishe & Tuem, 2019). Entre los estudios donde se muestra la alteración que ejerce la CTX en efectos farmacológicos de diferentes drogas de abuso, se observa la prevención de la dependencia física desarrollada durante la exposición crónica a la morfina (Rawls *et al.*, 2010), la inhibición de la sensibilización locomotora producida por cocaína y anfetamina (Sondheimer & Knackstedt, 2011; Rasmussen *et al.*, 2011), el bloqueo del restablecimiento del CPS inducida por metanfetamina (Abulseoud *et al.*, 2012) y la reducción del consumo de alcohol (Sari *et al.*, 2013).

El ácido clavulánico, un inhibidor de la betalactamasa que se administra normalmente en combinación con amoxicilina, es poseedor del anillo betalactámico y también ha mostrado actividad neuroprotectora en estudios donde reduce los efectos gratificantes, hipertérmicos y locomotores-sensibilizadores de la morfina en ratas (Schroeder *et al.*, 2014) y disminuye la eficacia reforzadora de cocaína en ratones (Kim *et al.*, 2016).

Se han sugerido mecanismos para las acciones neuroprotectoras de los betalactámicos, tales como la regulación positiva de la expresión de GLT-1, la atenuación del estrés oxidativo y la neuroinflamación (Yimer, Hishe & Tuem, 2019).

Particularmente, la cefalotina (CEF), una cefalosporina de primera generación con un espectro antibiótico amplio, descrita por primera vez por Chauvette en 1962, es una molécula que en su estructura contiene un anillo betalactámico que aún no ha sido explorada en el contexto de la regulación neuroinmunológica y que puede tener un transporte más expedito a través de la barrera hematoencefálica (Cherubin *et al.*, 1989) y un tiempo de vida media más prolongado que el del ácido clavulánico (Munch *et al.*, 1982; Cherubin *et al.*, 1989).

1.5 Modelos animales de adicciones

Los modelos animales juegan un papel importante en la comprensión de la relación entre los procesos biológicos y de comportamiento, y cómo éstos son alterados por los cambios ambientales y de desarrollo; además, permiten estandarizar las condiciones experimentales, intervenir, estudiar un organismo en comportamiento y realizar análisis neurobiológicos (Lamontage & Olmstead, 2018).

Muchos componentes de la conducta adictiva se pueden estudiar en animales de experimentación, por ejemplo, el valor reforzante primario de las drogas, los aspectos cognitivos como el procesamiento de asociaciones droga-contexto, fenómenos de sensibilización o tolerancia a diferentes efectos de la sustancia, entre otros. Los modelos animales de adicción a las drogas proporcionan una herramienta muy útil a la hora de estudiar los procesos neurobiológicos y conductuales implicados en la adicción contribuyendo a la identificación de nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento de esta enfermedad (García *et al.*, 2017).

Durante las últimas décadas, los investigadores han utilizado modelos animales para evaluar los efectos conductuales de las drogas de abuso que están potencialmente relacionados con sus efectos en los seres humanos (Badiani *et al.*, 2011).

Entre los principales modelos animales empleados para estudiar el refuerzo producido por las drogas y las conductas adictivas destacan principalmente el paradigma de autoadministración (AA), el condicionamiento de preferencia de sitio (CPS) y la autoestimulación eléctrica intracraneal (AEIC); no obstante, otros modelos también ofrecen información relevante y son, por lo tanto, ampliamente utilizados (García *et al.*, 2017).

2. JUSTIFICACIÓN

La adicción es una enfermedad crónica, recidivante y potencialmente mortal que se caracteriza por compulsividad e impulsividad para consumir un fármaco, dificultad para controlar su consumo, problemas sociales y presencia de un estado emocional lesivo (Koob & Volkow, 2010). De entre todas las moléculas con potencial adictivo, las anfetaminas representan un grave problema de salud mundial debido a la facilidad de su adquisición y al alto potencial adictivo que poseen (Cao *et al.*, 2016). A pesar de su importancia como un problema de salud mundial, hasta este momento no existe una terapia eficaz para prevenir o eliminar la adicción a las anfetaminas.

De entre la gran cantidad de aproximaciones que se han intentado para el tratamiento de la adicción, en últimas fechas se ha considerado fundamental el manejo de la respuesta neuroinmune como parte de la terapéutica. Esto debido a que se ha encontrado que varias moléculas con potencial adictivo como la anfetamina (Franke *et al.*, 2003a), la cocaína (Fattore *et al.*, 2002) o la morfina (Beitner-Johnson *et al.*, 1993) comparten una alteración en la regulación de los neurotransmisores debido a una astrogliosis reactiva ante el consumo.

Esto puede causar una disminución de la expresión de los transportadores de glutamato GLT1/ EAAT2 en la membrana celular de los astrocitos (Spencer & Kalivas, 2017). El evento antes mencionado no es exclusivo de las sustancias con potencial adictivo, de hecho, se ha encontrado en diversas patologías tales como

las enfermedades de Parkinson (Zhang *et al.*, 2016) y Alzheimer (Scott *et al.*, 2011), esquizofrenia (Shan *et al.*, 2012) y dolor patológico (Guo *et al.*, 2019), entre otros.

Debido a lo anterior, diversos grupos de investigación han buscado moléculas cuyo efecto farmacológico fuera elevar la expresión de transportadores GLT1. La primera ocasión que se encontró un grupo de moléculas con estas propiedades fue en 2005 cuando el grupo de investigación liderado por Rothstein y cols. administraron 1040 fármacos distintos en cultivos de astrocitos humanos y murinos encontrando que todos los betalactámicos utilizados, incluidos ceftriaxona y cefalotina, elevaron hasta tres veces la expresión de transportadores de GLT1 en las membranas astrocíticas. En apoyo a lo anterior, los betalactámicos ha sido probados en modelos de dolor patológico (Ochoa-Aguilar *et al.*, 2016), crisis convulsivas (Hussein *et al.*, 2016) y particularmente en excitotoxicidad (Wei *et al.*, 2012), entre otros.

Estas moléculas también han sido probadas en modelos de adicción y se han encontrado resultados interesantes, por ejemplo, Kim y cols. (2016) demostraron que el ácido clavulánico disminuye el reforzamiento de la morfina en ratones, Knackstedt y cols. (2010) encontraron que la ceftriaxona previene la recaída en la búsqueda de cocaína en ratas, Rasmussen y cols. (2011) probaron que la ceftriaxona atenúa la hiperactividad y la sensibilización conductual inducidas por la exposición repetida a anfetaminas en ratas Sprague-Dawley.

Es importante mencionar que a pesar de que la cefalotina fue la primera cefalosporina desarrollada (Greenwood, 2009), hasta este momento no ha sido determinado si esta molécula betalactámica posee un efecto terapéutico o preventivo en modelos de adicción. Debido a lo anterior, la intención de la presente tesis es determinar si la cefalotina ejerce algún efecto inhibitorio en el modelo de preferencia de sitio inducida por anfetaminas y su comparación con ceftriaxona.

3. HIPÓTESIS

La administración de ceftriaxona y cefalotina prevendrán la conducta de recompensa inducida por anfetaminas en ratas.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar conductualmente si la recompensa inducida por anfetaminas se reduce al administrar ceftriaxona y cefalotina en un modelo de condicionamiento de preferencia de sitio en ratas.

4.2 Objetivos particulares

- Estandarizar un modelo de preferencia de sitio condicionado a anfetaminas en ratas.
- Evaluar el efecto de la administración de ceftriaxona en la conducta de recompensa en un modelo de preferencia de sitio condicionado a anfetaminas en ratas.
- Evaluar el efecto de la administración de cefalotina en la conducta de recompensa en un modelo de preferencia de sitio condicionado a anfetaminas en ratas.

5. MÉTODO

5.1 Animales

Se utilizaron ratas Wistar macho de 200 - 250 g, provenientes del bioterio central de la Facultad de Medicina de la UNAM. Fueron alojadas individualmente, en cajas de acrílico, con un ciclo luz-oscuridad invertido 12x12 horas (7 am- 7 pm) y se les proporcionó comida y agua *ad libitum*. Los experimentos se llevaron a cabo en un cuarto de experimentación conductual, con iluminación controlada y atenuación a ruidos externos. Todos los procedimientos se realizaron conforme a lo establecido en la NOM-062-ZOO-1999 bajo la aceptación del protocolo FM/DI/074/2017 por parte del Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL).

5.2 Fármacos

Se disolvió sulfato de dl-anfetamina (Sigma) en solución salina estéril (NaCl- 0.9%) y se inyectó vía intraperitoneal (i.p) a dosis de 0.5, 1, 2.5 y 5 mg/kg.

La Ceftriaxona (Amcef ®) se disolvió en solución salina 500 mg/5 ml y se empleó a una dosis de 200 mg/kg. La Cefalotina (AMSA) se disolvió en solución salina 1g/ 5ml y se usó a una dosis de 100 mg/kg. Ambos se administraron i.p, a la misma hora (08:00 hrs) los días que se llevó a cabo el condicionamiento.

5.3 Condicionamiento de Preferencia de Sitio

El condicionamiento de preferencia de sitio (CPS) es un modelo conductual basado en los principios del condicionamiento clásico. Se utiliza para estudiar las asociaciones de contexto relacionados con la recompensa, incluidas las recompensas naturales y las drogas de abuso (Tzschentke, 2014; Blanco- Gandía *et al.*, 2018).

Este modelo involucra el estudio de los mecanismos de aprendizaje y memoria al establecer una preferencia de los animales por compartimentos que inicialmente no preferían, pero fueron emparejados con fármacos adictivos (memoria de recompensa) (Sun *et al.*, 2018).

Para este modelo se emplea un aparato de dos o tres compartimentos con características contextuales distintas. Consta de tres fases: habituación, condicionamiento y prueba.

En la fase de habituación o precondicionamiento, el animal se expone al aparato para que se familiarice con el ambiente y proporcione una medida de preferencia inicial para cada compartimento (Mckendrick & Graziane, 2020). Durante la fase de condicionamiento, las propiedades gratificantes de la droga (estímulo incondicionado) se combinan con uno o más estímulos contextuales neutros (iluminación, color de las paredes, textura del piso), que adquieren propiedades gratificantes después de varias sesiones y se convierten en estímulos condicionados (asociación del contexto con la droga) (Sun *et al.*, 2018). Finalmente, en la fase de prueba o postcondicionamiento se obtiene un valor de la expresión del CPS: si los animales (en un estado libre de drogas) pasan más tiempo en el compartimento asociado al fármaco, significa que el fármaco produce CPS (Aguilar, Rodríguez-Arias & Miñarro, 2008).

Para los experimentos, se utilizó una doble caja de condicionamiento de sitio con 3 compartimentos cada una (Figura 6).

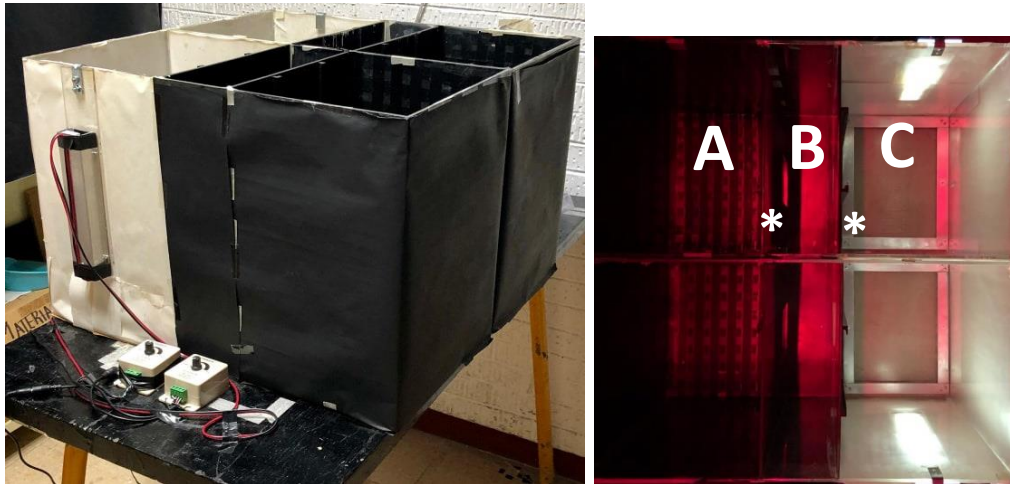


Figura 6. Caja de acrílico, empleada para realizar el modelo de **Condicionamiento de Preferencia de Sitio**. Se muestra la vista desde afuera (a) y desde arriba (b). Se pueden apreciar los compartimentos con características distintas (A, B y C), interconectados por pequeñas puertas removibles (*).

Las características de cada compartimento se explican en la tabla 3.

Tabla 3. Características de cada compartimento (A, B y C) de la caja de Preferencia de Sitio.

	A	B	C
Medidas (cm)	30 x 23	5 x 23	30 x 23
Color de las paredes	Negro	Gris	Blanco
Textura del piso	Liso	Liso	Malla metálica
Iluminación (luxes)	0.8	18	102

Las ratas Wistar fueron alojadas en el bioterio cinco días antes del condicionamiento, para su correcta inversión del ciclo circadiano. Su transporte del bioterio al cuarto de conducta se realizó con las cajas- habitación cubiertas por una lona negra que evitó el paso de luz al interior de las cajas-habitación. Este procedimiento se repitió para el transporte de regreso al bioterio. En los intermedios, los animales permanecieron en la habitación conductual oscura, con agua y comida *ad libitum*.

Se empleó el procedimiento sesgado (*biased*), en el cual, el animal explora libremente los compartimentos y elige permanecer en el compartimento donde siente mayor seguridad. Como resultado, el compartimento menos preferido (C) fue elegido para la administración del fármaco (anfetaminas). Los animales sin preferencia o con preferencia a otro compartimento fueron eliminados del estudio.

El tren experimental se llevó a cabo en 6 días, divididos en 3 fases: prueba de preferencia precondicionamiento, condicionamiento y prueba de preferencia postcondicionamiento.

Fase de prueba preferencia precondicionamiento: El día 1 cada animal fue colocado en el compartimento central (B), permitiéndole explorar libremente la caja completa durante 900 segundos. Para determinar su preferencia basal, se empleó el software OMNIALVA®

Fase de condicionamiento: Las sesiones de condicionamiento se realizaron del día 2 al día 5. Consistieron en la administración vía intraperitoneal de vehículo (solución salina al 0.9%) o sulfato de dl-anfetamina (0.5, 1, 2.5 mg/kg); inmediatamente después se colocó al animal en uno de los compartimentos laterales de acuerdo con el fármaco correspondiente (C- anfetamina / A- solución salina). Los animales permanecían en el compartimento durante 30 minutos. Las sesiones se efectuaron 2 veces al día, alternando las sesiones anfetamina con solución salina, con 6 horas de separación entre ellas, como se muestra en la Figura 7.

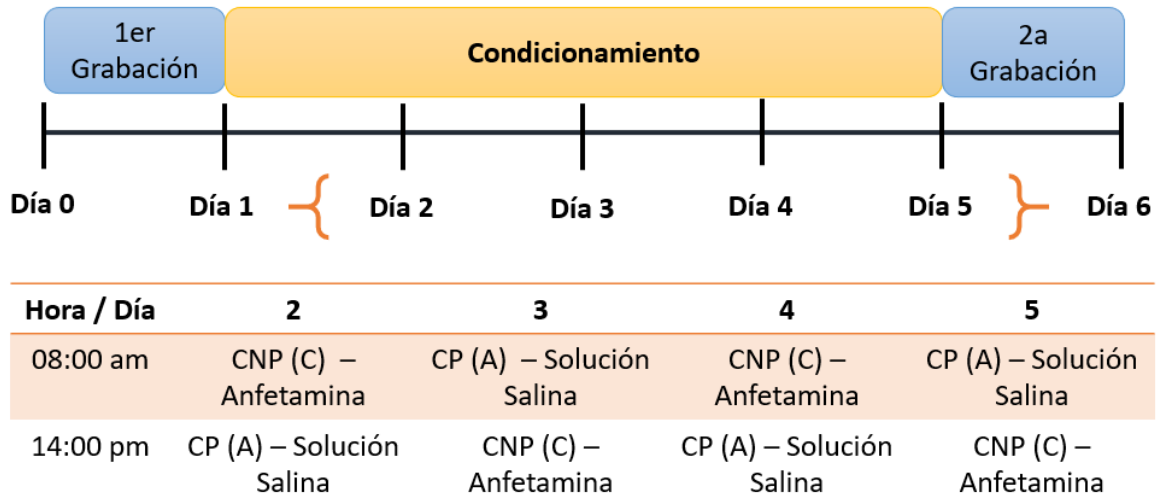


Figura 7. Diseño experimental. Se muestran los horarios y las condiciones de administración de anfetaminas. CNP= Compartimento No Preferido, CP = Compartimento preferido, C= Compartimento “C” (claro), A= Compartimento “A” (oscuro).

Fase de prueba preferencia postcondicionamiento: El día 6 los animales fueron colocados nuevamente en el compartimento B, con acceso libre a toda la caja. Su exploración se grabó durante 900 segundos, determinando el compartimento preferido después del condicionamiento.

Para los experimentos con los antibióticos betalactámicos se utilizó el mismo diseño experimental, administrando previamente Ceftriaxona o Cefalotina los días de condicionamiento, vía intraperitoneal (una vez al día, a las 8:00 am).

5.4 Grupos experimentales

Grupo Control (n=10): Se administró solución salina en compartimentos A y C.

Grupo Anfetamina 0.5 mg/kg (n=8): Se administró anfetaminas en compartimento C y solución salina en el A.

Grupo Anfetamina 1 mg/kg (n=8): Se administró anfetaminas en compartimento C y solución salina en el A.

Grupo Anfetamina 2.5 mg/kg (n=8): Se administró anfetaminas en compartimento C y solución salina en el A.

Grupo Ceftriaxona + Anfetamina 1 mg/kg (n=10): Se administró anfetaminas en compartimento C y solución salina en el A. La Ceftriaxona fue administrada a los animales a las 08:00 hrs durante la fase de condicionamiento.

Grupo Cefalotina + Anfetamina 1 mg/kg (n=10): Se administró anfetaminas en compartimento C y solución salina en el A. La Cefalotina fue administrada a los animales a las 08:00 hrs durante la fase de condicionamiento.

5.5 Análisis estadístico de datos

Para el análisis de la conducta se utilizó el programa OMNIALVA®

Para calcular el Condicionamiento de Preferencia de Sitio (CPS) se estimó la diferencia de tiempo que pasó el animal en cada compartimento antes y después de las sesiones de condicionamiento. Se usó la siguiente fórmula:

CPS: Tiempo total que pasan los animales en el compartimento no preferido después del condicionamiento - Tiempo total que pasan los animales en el compartimento no preferido antes del condicionamiento.

Se estimó la normalidad de la distribución de los datos empleando la prueba de D'Angostino & Pearson. Para la evaluación estadística se utilizó un ANOVA de una vía, seguido de una prueba post hoc (Tuckey), considerando $p < 0.05$ como significativo. Se utilizó el software GraphPad Prism 5 para los análisis estadísticos.

6. RESULTADOS

Inicialmente se buscó la estandarización del modelo de Preferencia de Sitio. Por lo tanto, se probaron 3 dosis para elegir la indicada para emplear durante el resto del experimento, con un grupo control salina (n=8) y anfetaminas en dosis de 0.5, 1 y 2.5 mg/kg. El grupo control salina mostró una preferencia al compartimento A, pasando en promedio -150.3 segundos (s), con un error estándar de 33.44 s. Las tres dosis de anfetaminas utilizadas mostraron una preferencia al compartimento C con promedio de 171.5 s para la dosis de 0.5 mg/kg (n=8), 182.6 s para la dosis de 1 mg/kg (n=8) y 108.4 s para la dosis de 2.5 mg/kg (n=8), con errores estándar de 47.4, 21.93 y 22.44 segundos, respectivamente. No se encontró diferencia significativa entre ellas (Fig. 8).

Considerando el error estándar y el promedio de preferencia se decidió elegir la dosis de 1 mg/kg para el resto del estudio.

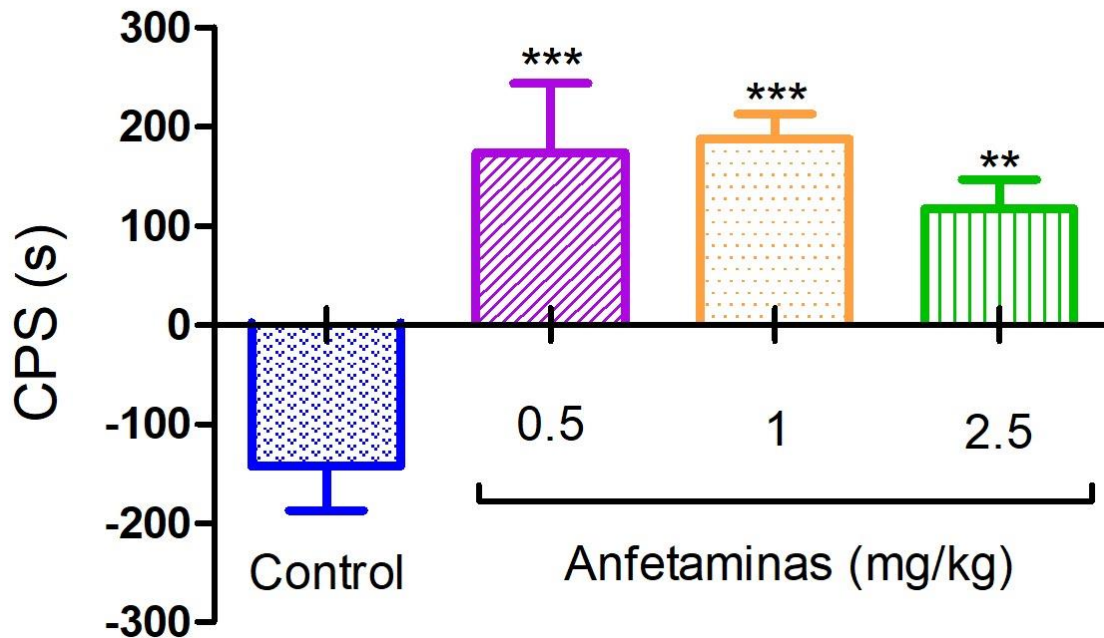


Figura 8. Estandarización del modelo de Condicionamiento de Preferencia de Sitio con anfetaminas a dosis de 0.5, 1 y 2.5 mg/kg. Se observa un aumento de la preferencia de sitio (en segundos) condicionada a las diferentes dosis de anfetaminas respecto al grupo control. N= 8. Las barras representan el promedio y las líneas verticales representan la desviación estándar. * $p < 0.05$

Posteriormente, como se muestra en la **Figura 9**, la administración i.p. de ceftriaxona (200 mg/kg, n= 10) disminuyó de manera significativa el efecto reforzante de la anfetamina, con un promedio de 192.9 s para anfetaminas y 4.9 s para ceftriaxona.

Cuando se utilizó cefalotina (100 mg/kg, n=10) también se encontró una disminución significativa del efecto reforzante de las anfetaminas, con un promedio de 36 s. El valor de p fue menor a 0.0001.

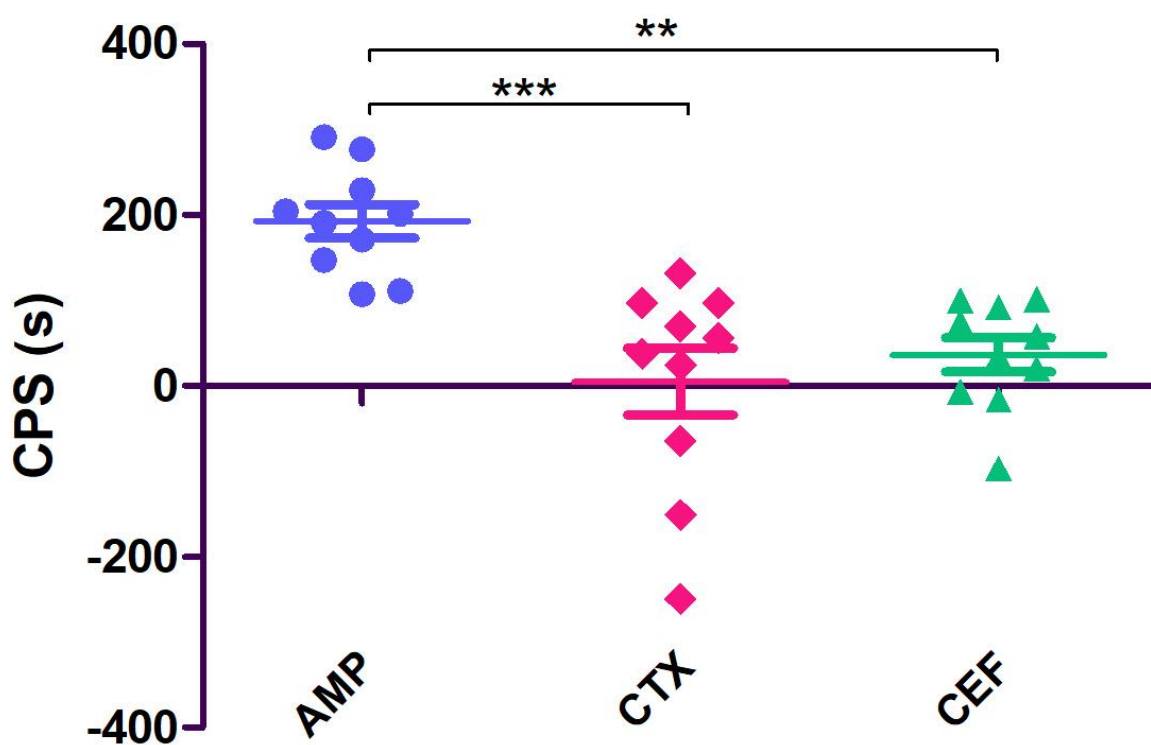


Figura 9. La administración de ceftriaxona (CTX) y de cefalotina (CEF) disminuye la preferencia de sitio condicionada a anfetaminas en ratas.

La gráfica muestra el tiempo en segundos de la preferencia de sitio inducida por anfetaminas (AMP) 1mg/kg comparado con los grupos de AMP con previa administración de dos betalactámicos: ceftriaxona (CTX) y cefalotina (CEF). N= 10. *p<0.05

Al analizar el efecto comparativo con el grupo control salina se encontraron diferencias significativas respecto a los grupos de Anfetaminas (n=10), Ceftriaxona (n=10) y Cefalotina (n=10). Por lo que la administración de ceftriaxona y cefalotina en adyuvancia con anfetaminas aminora la preferencia de sitio, pero no la elimina por completo (Figura 10).

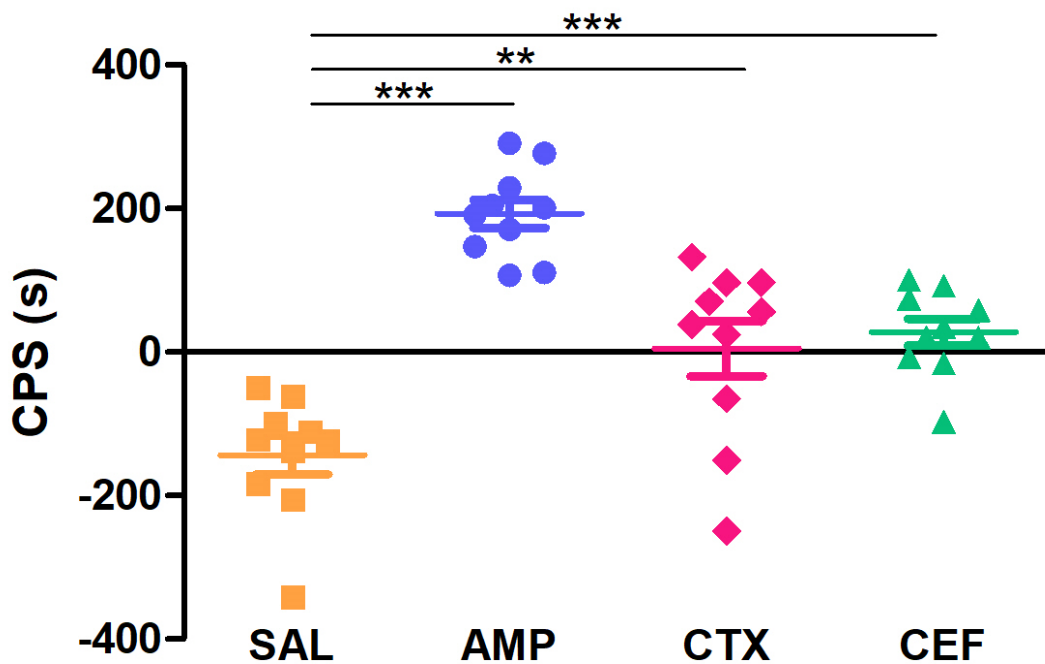


Figura 10. Comparación de preferencia de sitio en grupos que recibieron fármacos vs grupo control.

La gráfica muestra el tiempo en segundos de la preferencia de sitio inducida por anfetaminas (AMP) comparado con los grupos de AMP con previa administración de dos betalactámicos: ceftriaxona (CTX) y cefalotina (CEF), así como con el grupo control (SAL). El condicionamiento con AMP aumenta la preferencia de sitio, mientras que la administración previa con CTX y CEF la disminuyen, sin embargo, comparándolos con el grupo control (SAL) existe también diferencia significativa. N= 10. *p<0.05

7. DISCUSIÓN

El condicionamiento de preferencia de sitio (CPS) es un modelo ampliamente utilizado para evaluar los efectos recompensantes de sustancias adictivas (Prus, James & Rosecrans, 2009). Sin embargo, engloba muchas variables, cuya modificación puede alterar los resultados del estudio (Kaur, 2013). Por ejemplo, se ha demostrado que la vía de administración modifica la respuesta del fármaco en el organismo debido a la diferencia en las tasas de absorción y metabolismo (Turner *et al.* 2011).

La dosis del fármaco es una de las variables más importantes. Algunas drogas como la nicotina pueden producir recompensa o aversión dependiendo de la dosis utilizada (Torres *et al.*, 2008). Sin embargo, para las anfetaminas no hay una dosis estándar, sino que se hacen estudios con dosis diferentes. Debido a esto, se probaron tres dosis (0.5, 1 y 2.5 mg/kg) empleadas satisfactoriamente en estudios anteriores (Yates *et al.*, 2012; Burke, Watt & Forster, 2011; Latagliata *et al.*, 2017). De esta manera se determinó 1mg/kg como la dosis óptima para este estudio (Figura 9).

Como se esperaba, en los grupos donde se administró un antibiótico betalactámico previo al condicionamiento con anfetaminas, hubo una disminución de la preferencia, es decir, la ceftriaxona y la cefalotina mostraron eficacia para reducir la motivación de búsqueda del psicoestimulante empleado (Figura 10). Esta evidencia es consistente con datos precedentes que muestran que la ceftriaxona reduce los efectos gratificantes de metanfetaminas en un modelo de preferencia de sitio condicionado en ratas Sprague-Dawley (Abulseoud *et al.*, 2012). Por su parte, la cefalotina no había sido probada anteriormente como agente neuroprotector en modelos animales de adicción, siendo este el primer estudio que aporta información referente a su capacidad para disminuir el reforzamiento en un modelo de preferencia de sitio condicionada a anfetaminas.

La expresión de la adicción y el comportamiento relacionado con el abuso de sustancias involucran una desregulación de la neurotransmisión glutamatérgica, debido a la cantidad excesiva de glutamato en los circuitos de recompensa del cerebro (D'Souza, 2015). Dicha alteración ocurre en parte debido a una mayor liberación vesicular en el núcleo accumbens a través de la inactivación de los receptores de glutamato metabotrópicos inhibidores presinápticos mGluR2 (Márquez *et al.*, 2016). También se ha demostrado que la expresión de la subunidad catalítica de xC-, xCT, así como el transportador GLT-1 se reducen en el NAc tras el abuso de sustancias (Roberts-Wolfe & Kalivas, 2015).

El exceso de glutamato en el espacio sináptico de manera crónica provoca la activación adicional de receptores glutamatérgicos sinápticos (AMPA, NMDA) y no sinápticos (GluN2B, mGluR5) (Márquez *et al.*, 2016). Con un mayor número de receptores, la sinapsis se vuelve más fuerte, generando un aumento en la síntesis de factores de crecimiento, que están involucrados en la formación de nuevas sinapsis, lo que permite la base de la plasticidad sináptica (Jankowsky & Patterson, 1999). El proceso de potenciación a largo plazo también incluye cambios en el tamaño y la forma de las espinas dendríticas (Bourne & Harris, 2007; Nägerl *et al.*, 2007) Figura 11.

El mecanismo más plausible de la capacidad de la ceftriaxona y la cefalotina para reducir los efectos reforzantes de la anfetamina es la activación de la expresión del transportador GLT-1, que conduciría a la normalización de la difusión del glutamato en el circuito de recompensa cerebral de los roedores (Kim *et al.*, 2016). En el estudio de Rothstein *et al.*, 2005 se encontró que el antibiótico ceftriaxona, así como otras moléculas betalactámicas estimulan la expresión de los transportadores GLT-1. Esta acción aparentemente es mediada por un aumento en la transcripción del gen GLT-1.

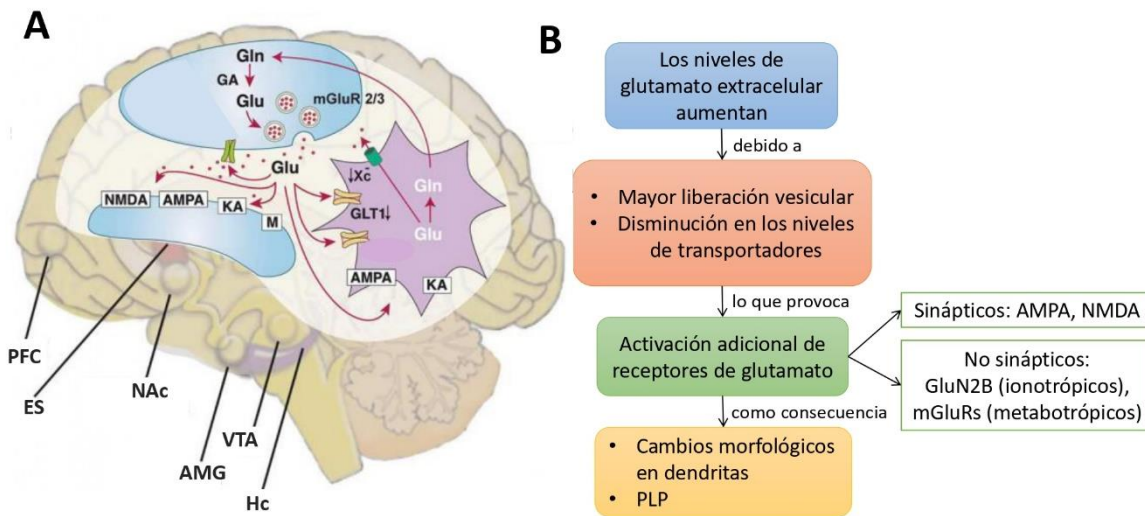


Figura 11. Sistema glutamatergico alterado tras el consumo crónico de estimulantes.

A) Principales neuroadaptaciones glutamatergicas en regiones involucradas en el circuito de recompensa cerebral. B) Esquema explicativo sobre los desencadenantes en la alteración glutamatergica. Glu- Glutamato, PFC- Corteza Prefrontal, ES- Estriado, Nac- Núcleo Accumbens, AMG- Amígdala, VTA- Área Ventral Tegmental, Hc- Hipocampo [Figura modificada de Márquez et al., 2016].

La diferencia encontrada al comparar la preferencia de sitio de los grupos a los que se les administró previamente CTX y CEF con el grupo control SAL (Figura 11) indica que a pesar de que los betalactámicos disminuyen la preferencia a las anfetaminas, no la eliminan completamente.

Es importante destacar que la cefalotina produce estos efectos a la mitad de la dosis que el antibiótico betalactámico ceftriaxona. Este hecho apunta hacia el estudio de cefalotina como una alternativa a ceftriaxona como tratamiento potencial para la disminución del reforzamiento inducido por fármacos adictivos.

En resumen, en nuestro estudio demostramos por primera ocasión que la cefalotina tiene un efecto inhibitor del reforzamiento inducido por la administración de anfetaminas y que este efecto no tiene una diferencia significativa con aquel mostrado con ceftriaxona. Este último resultado puede deberse al hecho de que tanto la cefalotina como la ceftriaxona poseen un anillo betalactámico, habiéndose

encontrado en estudios previos que el mecanismo de CTX requiere la presencia de un núcleo central β -lactámico, ya que la expresión de GLT-1 no se ve reforzada por otros antibióticos que carecen de esta característica (Rothstein *et al.*, 2015).

Si bien el efecto inhibitor de las conductas de preferencia a drogas podría estar relacionado con el aumento de los transportadores GLT1 (Bechard *et al.*, 2018), existe la posibilidad de que también estuviera relacionada con la modulación de factores proinflamatorios como el TNF o antiinflamatorios como la IL 10 (Ochoa-Aguilar *et al.*, 2017).

8. CONCLUSIONES

- La dosis de 1 mg/kg de anfetamina es la más adecuada para generar recompensa en el modelo de Condicionamiento de Preferencia de Sitio en ratas Wistar.
- La administración de ceftriaxona disminuye la preferencia de sitio condicionada a anfetaminas en ratas Wistar.
- La administración de cefalotina disminuye la preferencia de sitio condicionada a anfetaminas en ratas Wistar.
- La disminución de la preferencia de sitio condicionada a anfetaminas producida por ceftriaxona y cefalotina es parcial.

9. PERSPECTIVAS A FUTURO

Para complementar los resultados obtenidos en este trabajo y conocer la interacción cefalotina-anfetamina a niveles neuroquímicos y moleculares, es necesario llevar a cabo estudios que observen la expresión del transportador GLT-1 en el cerebro de ratas que fueron tratadas con cefalotina.

Por otra parte, es importante investigar si las moléculas betalactámicas también alteran sistemas no glutamatérgicos, como el dopaminérgico y el GABAérgico, para regular los comportamientos inducidos por las anfetaminas.

Finalmente, estudios futuros podrán determinar si otros fármacos betalactámicos que no hayan sido probados reducen los efectos gratificantes de anfetaminas u otras sustancias adictivas en modelos conductuales, así como su actividad molecular y neuroquímica.

10. ANEXO

Mecanismo de acción de los betalactámicos

La pared celular es una estructura que envuelve a la mayoría de las células bacterianas y actúa como una capa protectora contra las variaciones de presión osmótica interna. Está compuesta principalmente por una proteína llamada peptidoglucano (PG), que forma una malla gruesa en bacterias grampositivas y delgada en organismos gramnegativos. Esta malla de peptidoglucano consta de moléculas de ácido N-acetilmurámico (NAM) y N-acetilglucosamina (NAG) reticulados mediante enlaces peptídicos (Cho, Uehara & Bernhardt, 2014).

Los componentes del peptidoglucano se sintetizan en el citoplasma y son transportados a través de la membrana citoplásmica al espacio periplásmico, donde NAM y NAG se ensamblan como pentapéptido. La última fase de la síntesis de la pared bacteriana consiste en la formación de tetrapéptidos a partir de los pentapéptidos mediante la pérdida de uno de los aminoácidos terminales, en un proceso conocido como transpeptidación, a través de la acción de un grupo de enzimas llamadas proteínas de unión a penicilina (PBP, por sus siglas en inglés) (Ochoa-Aguilar *et al.*, 2016).

El anillo betalactámico presenta una similitud estructural con la región del pentapéptido al que se unen estas enzimas, por lo que es capaz de unirse a ellas de forma covalente e impedir así la formación de la pared celular (**Figura 12**).

Sin la pared, la bacteria queda expuesta al medio y muere debido a cambios en la presión oncótica. Por tanto, para que actúen los betalactámicos, es preciso que la bacteria se halle en fase de multiplicación, ya que éste es el momento en que se sintetiza la pared celular. Los betalactámicos también actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglucano (Marin & Gudiol, 2003; Suárez & Gudiol, 2009).

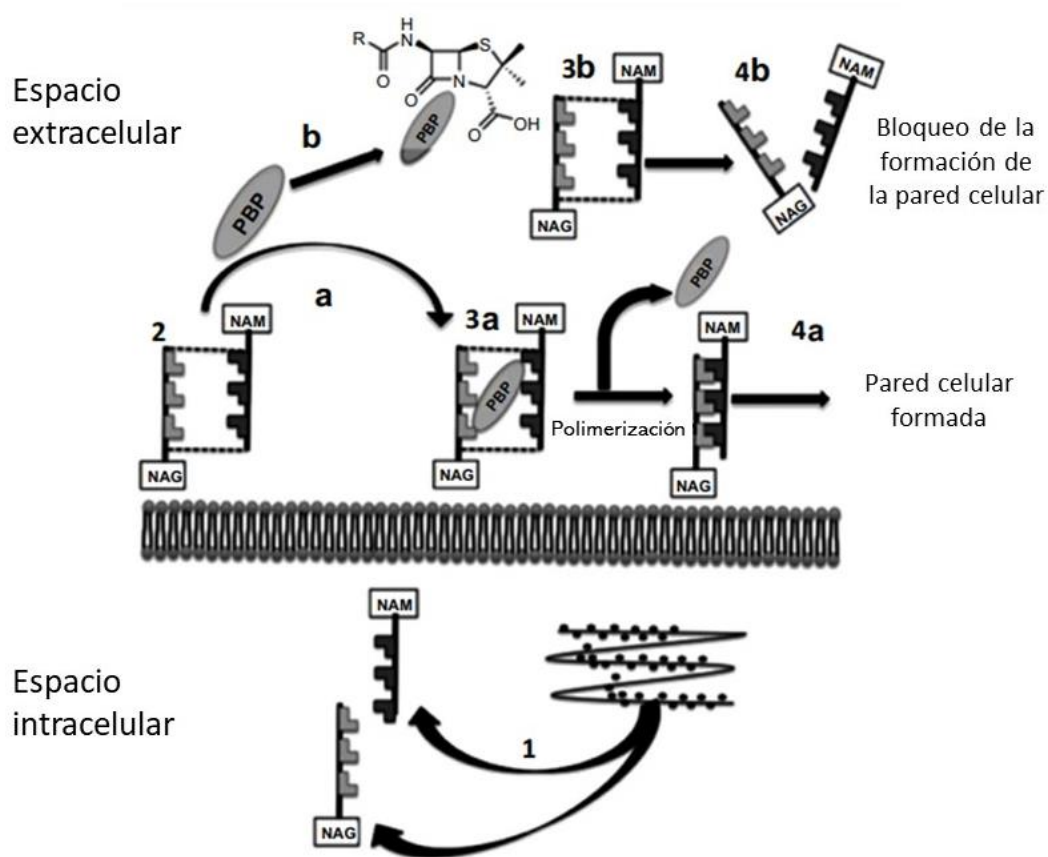


Figura 12. Formación de la pared celular y acción de los betalactámicos. El proceso de formación de la pared celular se puede dividir en cuatro pasos: 1) Se sintetizan las cadenas de glucanos N-acetil glucosamina (NAG) y el Ácido N-acetil murámico (NAM) y se transportan fuera de la membrana celular. 2) NAG y NAM se disponen formando una cadena de pentapéptidos. 3a) Una proteína de unión a penicilina (PBP) cataliza la polimerización de la cadena de pentapéptidos formada previamente, 4a) formando finalmente la pared celular bacteriana. Sin embargo, en presencia de un antibiótico betalactámico 3b), la PBP se une preferentemente al anillo de betalactama, bloqueando así su acción en el pentapéptido que finalmente 4b) bloquea la formación de la pared celular, provocando la muerte de la bacteria [Modificada de Ochoa-Aguilar et al., 2016].

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (APA) Asociación Americana de Psiquiatría. (2014). Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales. 5° Edición. Médica Panamericana.
- Abulseoud, O.A., Miller, J.D., Wu, J., Choi, D-S. & Holschneider, D.P. (2012). Ceftriaxone upregulates the glutamate transporter in medial prefrontal cortex and blocks reinstatement of methamphetamine seeking in a condition place preference paradigm. *Brain Res*, 1456: 14-21
- Adinoff, B. (2004). Neurobiologic processes in drug reward and addiction. *Harv Rev Psychiatry*, 12(6): 305-320.
- Aguilar, M.A., Rodríguez-Arias, M. & Miñarro, J. (2008). Neurobiological mechanisms of the reinstatement of drug-conditioned place preference. *Brain Research Review*, 59: 253-277.
- Alonso- Alonso, M., Woods, S., Pelchat, M., Grigson, P. S., Stice, E., Farooqui, S., Khoo, C. S., Mattes, R. D. & Beauchamp, G. K. (2015). Food reward system: current perspectives and future research needs. *Nutrition Reviews*, 73(5): 296-307.
- Arias-Carrión, O., Stamelou, M., Murillo- Rodríguez, E., Menéndez-González, M. & Pöppel, E. (2010). Dopaminergic reward system: a short integrative review. *International Archives of Medicine*, 3(24). doi: 10.1186/1755-7682-3-24
- Aron, A., Fisher, H., Marshek, D.J., Strong, G., Li, H. & Brown, L. (2005). Reward, motivation, and emotion systems associated with early-stage intense romantic love. *J Neurophysiol*, 94: 327-337. doi:10.1152/jn.00838.2004.
- Badiani, A., Belin, D., Epstein, D., Calu, D. & Shaham, Y. (2011). Opiate versus psychostimulant addiction: the differences do matter. *Nature Reviews Neuroscience*, 12: 685-700. <https://doi.org/10.1038/nrn3104>
- Baz-Lomba, J., Salvatorre, S., Gracia-Lor, E., Bade, R., Castiglioni, S., Castrignanò, E., Causanilles, A., Hernández, F., Kasprzyk-Hordern, B., Kinyua, J., McCall, A-K., van Nuijs, A., Ort, C., Plósz, B., Ramin, P., Reid, M., Rousis, N., Ryu, Y., de Voogt, P., Bramness, J. y Thomas, K. (2016). Comparison of pharmaceutical, illicit drug, alcohol, nicotine and caffeine levels in wastewater with sale, seizure and consumption data for 8 European cities. *BMC Public Health*, 16: 1035
- Bechard, A.R. & Knackstedt, L.A. (2019). Glutamatergic Neuroplasticity in Addiction. *Neural Mechanisms of Addiction*: Elsevier; p. 61- 74.
- Bechard, A.R., Hamor, P. U., Schwendt, M., & Knackstedt, L. A. (2018). The effects of ceftriaxone on cue-primed reinstatement of cocaine-seeking in male and female rats: estrous cycle effects on behavior and protein expression in the nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, 235(3), 837-848.

- Beitner-Johnson, D., Guitart, X. & Nestler, E.J. (1993). Glial fibrillary acidic protein and the mesolimbic dopamine system: regulation by chronic morphine and Lewis-Fischer strain differences in the rat ventral tegmental area. *J Neurochem*, 61(5), 1766-73.
- Berlin, G. & Hollander, E. (2013). Compulsivity, impulsivity, and the DSM-5 process. *CNS Spectrums*, 19(1): 62-68. doi:10.1017/S1092852913000722
- Blanco-Gandía, M.C., Aguilar, M.A, Miñarro, J. & Rodríguez-Arias, M. (2018). Reinstatement of Drug-seeking in Mice Using the Conditioned Place Preference Paradigm. *J. Vis. Exp.* e56983, doi:10.3791/56983
- Bisht, R., Kaur, B., Gupta, H. & Prakash, A. (2014). Ceftriaxone mediated rescue of nigral oxidative damage and motor deficits in MPTP model of Parkinson's disease in rats. *Neurotoxicology*, 44: 71–79. doi: 10.1016/j.neuro.2014.05.009
- Blood, A.J. & Zatorre, R. (2001). Intensely pleasurable responses to music correlate with activity in brain regions implicated in reward and emotion. *PNAS*, 98(20): 11818-11823
- Bourne, J. & Harris, K. (2007). Do thin spines learn to be mushroom spines that remember? *Curr Opin Neurobiol*, 17(3): 381-6. doi: 10.1016/j.conb.2007.04.009.
- Boutrel, B. & Koob, G. (2004). What keep us awake: the neuropharmacology of stimulants and wakefulness- promoting medications. *SLEEP*, 27(6): 1181-1194
- Bridges, R. J., & Esslinger, C. S. (2005). The excitatory amino acid transporters: pharmacological insights on substrate and inhibitor specificity of the EAAT subtypes. *Pharmacology & therapeutics*, 107(3), 271-285.
- Burke, A.R., Watt, M.J. & Forster, G.L. (2011). Adolescent social defeat increases adult amphetamine conditioned place preference and alters D2 dopamine receptor expression. *Neuroscience*, 197: 269- 279.
- Calipari, E. & Ferris, Mark. (2013). Amphetamine Mechanisms and Actions at the Dopamine Terminal Revisited. *J Neurosci*. 33(21): 8923-8925. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1033-13.2013
- Cao, D-N., Shi, J-J., Hao, W. & Li, J. (2016). Advances and challenges in pharmacotherapeutics for amphetamine-type stimulants addiction. *Eur J Pharmacol*, 780:129-35. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.03.040.
- Chauvette, R. R., Flynn, E. H., Jackson, B. G., Lavagnino, E. R., Morin, R. B., Mueller, R. A., Pioch, R. P., Roeske, R. W., Ryan, C. W., Spencer, J. L. & Van Heyningen, E. (1962). Chemistry of cephalosporin antibiotics. II. Preparation of a new class of antibiotics and the relation of structure to activity. *Journal of the American Chemical Society*, 84(17), 3401-3402.

- Cherubin, C. E., Eng, R. H., Norrby, R., Modai, J., Humbert, G., & Overturf, G. (1989). Penetration of newer cephalosporins into cerebrospinal fluid. *Reviews of infectious diseases*, 11(4), 526-548.
- Cho, H., Uehara, T. & Bernhardt. (2014). Beta-Lactam Antibiotics Induce a Lethal Malfunctioning of the Bacterial Cell Wall Synthesis Machinery. *Cell*, 159 (6): 1300-1311.
- (CONADIC) Comisión Nacional contra las Adicciones. (2019). Informe sobre la situación del consumo de drogas en México y su atención integral 2019.
- Cudkowicz, ME., Titus, S., Kearney, M., Yu, H., Sherman, A., Schoenfeld, D., Hayden, D., Shui, A., Brooks, B., Conwit, R., Felsenstein, D., Greenblatt, DJ., Keroack, M., Kissel, JT., Miller, R., Rosenfeld, J., Rothstein, JD., Simpson, E., Tolkoff-Rubin, N., Zinman, L., Shefner, JM. & Ceftriaxone Study Investigators. (2014). Safety and efficacy of ceftriaxone for amyotrophic lateral sclerosis: a multi-stage, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.*, 13(11): 1083–1091. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70222-4
- Cui, C., Cui, Y., Gao, J., Sun, L., Wang, Y., Wang, K., Li, R., Tian, Y., Song, S. & Cui J. (2014). Neuroprotective effect of ceftriaxone in a rat model of traumatic brain injury. *Neurol. Sci.* 35 (5), 695–700. doi: 10.1007/s10072-013-1585-4
- Cui, X., Li, L., Hu, Y-Y., Ren, S., Zhang, M. & Li, W-B. (2015). Sulbactam plays neuronal protective effect against brain ischemia via upregulating GLT1 in rats. *Mol Neurobiol*, 51: 1322- 1333.
- D'Souza, M.S. (2015). Glutamatergic transmission in drug reward: implications for drug addiction. *Front. Neurosci.* 9:404. doi: 10.3389/fnins.2015. 00404
- Demain, AL. & Sanchez, S. (2009). Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J Antibiot (Tokyo)*, 62(1): 5-16. doi: 10.1038/ja.2008.16
- DiChiara, G. & Bassareo, V. (2007). Reward system and addiction: what dopamine does and does not do. *Current opinion in Pharmacology*, 7(1): 69-76.
- (ENCODAT) Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco 2016-2017. Comisión Nacional contra las Adicciones.
- Fattore, L., Puddu, M.C., Picciau, S., Cappai, A., Fratta, W., Serra, G.P. & Spiga, S. (2002). Astroglial in vivo response to cocaine in mouse dentate gyrus: a quantitative and qualitative analysis by confocal microscopy. *Neuroscience*, 110(1): 1-6.
- Fernández-Espejo, E. (2006). Neurobiología de la adicción a psicoestimulantes. *Rev. Neurol.* 43(3): 147-154.
- Fleckenstein, A., Volz, T., Riddle, E., Gibb, J. & Hanson, G. (2007). New insights into the mechanism of action of amphetamines. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 47: 681-98.
- Fineberg, N., Potenza, M., Chamberlain, S., Berlin, H., Menzies, L., Bechara, A., Sahakian, B., Robbins, T., Bullmore, E. & Hollander, E. (2009). Probing compulsive and

impulsive behaviors, from animal models to endophenotypes: a narrative review. *Neuropsychopharmacology*, 35(3): 591-604. doi: 10.1038/npp.2009.185

Franke, H., Kittner, H., Grosche, J. & Illes, P. (2003a). Enhanced P2Y1 receptor expression in the brain after sensitization with d-amphetamine. *Psychopharmacology (Berl)*, 167(2), 187-194.

Fudge, J.L. & Emiliano, A.B. (2003). The extended amygdala and the dopamine system: another piece of the dopamine puzzle. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 15(3): 306-316. doi: 10.1176/jnp.15.3.306

Fuster, J.M. (2001). Prefrontal cortex. En Smelser, N.J. & Baltes, P.B. (Eds), *International Encyclopedia of the social & Behavioral Sciences* (pp. 11969-11976). Elsevier

García, M., Roger, C., Ortí, J., y Aguilar, M. (2017). Animal models of drug addiction. *adicciones*, 29(4): 278-92.

Gardner, E. (2005). Endocannabinoid signaling system and brain reward: Emphasis on dopamine. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*, 81(2): 263-284.

Gómez, J., García-Vázquez, E. & Hernández-Torres, A. (2015). Los betalactámicos en la práctica clínica. *Rev Esp Quimioter*, 28(1): 1-9.

Greenwood, D. (2009). Antimicrobial drugs: Chronicle of a twentieth century medical triumph. Oxford: Oxford University Press. ISBN 978-0-19-953484-5.

Guo, W., Imai, S., Zou, S., Yang, J., Watanabe, M., Wang, J., Dubner, R., Wei, F. & Ren, K. (2019). Altered glial glutamate transporter expression in descending circuitry and the emergence of pain chronicity. *Mol Pain*, 15. doi: 10.1177/1744806918825044

Häggkvist, F. & Franck, J. (2013). Animal Models of Addiction other than Alcohol. Biological Research on Addiction. USA: Elsevier. doi:10.1016/b978-0-12-398335-0.00007-8

Hakami, A. Y., & Sari, Y. (2017). β -Lactamase inhibitor, clavulanic acid, attenuates ethanol intake and increases glial glutamate transporters expression in alcohol preferring rats. *Neuroscience letters*, 657, 140-145.

Heal, D., Smith, S., Gosden, J. y Nutt, D. Amphetamine, past and present- a pharmacological and clinical perspective. (2013). *Journal of Psychopharmacology*, 27(6) 479-496.

Hu, Y., Li, W., Lu, L., Cai, J., Xian, X., Zhang, M., Li, Q. & Li, L. (2010). An anti-nociceptive role for ceftriaxone in chronic neuropathic pain in rats. *Pain*, 148(2): 284–301. doi: 10.1016/j.pain.2009.11.014

Hu, Y. Y., Xu, J., Zhang, M., Wang, D., Li, L., & Li, W., Bin (2015). Ceftriaxone modulates uptake activity of glial glutamate transporter-1 against global brain ischemia in rats. *J. Neurochem.* 132(2): 194–205. doi: 10.1111/jnc.12958

Huh, Y., Ju, MS., Park, H., Han, S., Bang, YM., Ferris, CF., Koppell, GA., King, JA., Kim, ML, Kim, DJ., Ahn, CH. & Oh, MS. (2010). Clavulanic acid protects neurons in

- pharmacological models of neurodegenerative diseases. *Drug Dev Res*, 71: 351-357.
- Hussein, A.M., Ghalwash, M., Magdy, K. & Abulseoud, O.A. (2016). Beta lactams antibiotic ceftriaxone modulates seizures, oxidative stress and connexin 43 expression in hippocampus of pentylentetrazole kindled rats. *J Epilepsy Res*, 6(1): 8-15. doi: 10.14581/jer.16002
- (INCB) International Narcotics Control Board. (2013). Report of the International Narcotics Control Board. United Nations Office at Vienna.
- Iversen, L. (2008). *Speed, ecstasy, ritalin*. The science of amphetamines. Oxford: University Press.
- Jankowsky, J.L. & Patterson, P.H. (1999). Cytokine and growth factor involvement in long-term potentiation. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 14(4-5): 273-286.
- Johnson, K., Stollings, J. L., & Ely, E. W. (2017). Breaking bad delirium: methamphetamine and boric acid toxicity with hallucinations and pseudosepsis. *Southern medical journal*, 110(2), 138.
- Kalivas, P. & Volkow, N. (2005). The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *Am J Psychiatry*, 162(8): 1403-13.
- Kardos, N. & A. L. Demain (2011). "Penicillin: the medicine with the greatest impact on therapeutic outcomes." *Appl Microbiol Biotechnol*, 92(4): 677-687.
- Kaur, S.P. (2013). Variables in research. *IJRRMS*, 3(4): 36-38.
- Keramati, M. & Gutkin, B. (2014). Homeostatic reinforcement learning for integrative reward collection and physiological stability. *eLife*. 3. doi:10.7554/elife.04811
- Kidra, M. (Ed.). (1 de julio 2020). Drug Classifications. American Addiction Centers Editorial Staff. <https://luxury.rehabs.com/drug-abuse/classifications/>
- Kim, J., John, J., Langford, D., Walker, E., Ward, S. & Rawls, S. (2016). Clavulanic acid enhances glutamate transporter subtype I (GLT-1) expression and decreases reinforcing efficacy of cocaine in mice. *Amino Acids*, 48:689-696. DOI 10.1007/s00726-015-2117-8
- Kish, S. J., Boileau, I., Callaghan, R. C., & Tong, J. (2017). Brain dopamine neurone 'damage': methamphetamine users vs. Parkinson's disease—a critical assessment of the evidence. *European Journal of Neuroscience*, 45(1), 58-66. doi: 10.1111/ejn.13363
- Knackstedt, L.A., Melendez, R.I. & Kalivas, P.W. (2010). Ceftriaxone restores glutamate homeostasis and prevents relapse to cocaine-seeking. *Biol Psychiatry*, 67(1): 81-84. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.07.018
- Konaklieva, M., Plotkin, B. & Herbert, T. (2009). B- Lactams as Neuroprotective Agents. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*, 8: 28-35.

- Koob, G. (2013). *Biological research on addiction*. USA: Elsevier.
- Koob, G., Arends, M., y Le Moal, M. (2014). *Drugs, addiction and the brain*. USA: Elsevier.
- Koob, G. & Le Moal, M. (2006). *Neurobiology of addiction*. USA: Elsevier
- Koob, G., y Simon, E. (2009). The Neurobiology of Addiction: Where We Have Been and Where We Are Going. *J Drug Issues*. 39(1): 115-132.
- Koob, G., y Volkow, N. (2016). Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *Lancet Psychiatry*, 3(8): 760-73.
- Koob, G., y Volkow, N. (2010). Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology*, 35(1): 217-238
- Kutlu, M. G., & Gould, T. J. (2016). Effects of drugs of abuse on hippocampal plasticity and hippocampus-dependent learning and memory: contributions to development and maintenance of addiction. *Learning & memory*, 23(10), 515-533.
- Lamontagne, S.J. & Olmstead, M.C. (2018). Animal models in addiction research: A dimensional approach. *Neuroscience and Behavioral Reviews*, 106: 91-101. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2018.06.005
- Latagliata, E.C., Lo Iacono, L., Chiacchierini, G., Sancandi, M., Rava, A., Oliva, G. & Puglisi-Allegra, S. (2017). Single Prazosin Infusion in Prelimbic Cortex Fosters Extinction of Amphetamine- Induced Conditioned Place Preference. *Front. Pharmacol*, 8(530). doi: 10.3389/fphar.2017.00530
- Lee, K-E., Kim, K-O., Cho, K-O. & Kim, SY. (2008). Pre-ischemic treatment with ampicillin reduces neuronal damage in the mouse hippocampus and neostriatum after transient forebrain ischemia. *Korean J Physiol Pharmacol*, 12(6): 287-291. doi: 10.4196/kjpp.2008.12.6.287
- Lisman, J.E. & Grace, A.A. (2005). The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron*, 46(5): 703-713.
- Mannan, A. Dark side of amphetamine and analogues: pharmacology, syndromic manifestation, and management of amphetamine addiction. *ACS Chem. Neurosci*. 9, 2299-2303.
- Marín, M. & Gudiol, F. (2003). Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 21(1): 42-55.
- Márquez, J., Campos- Sandoval, J. A., Peñalver, A., Matés, J.M., Segura, J. A., Blanco, E., Alonso, F. J. y Rodríguez de Fonseca, F. (2016). Glutamate and brain glutaminases in drug addiction. *Neurochem Res.*, 42(3); 846-857.

- Mauna, J.C., Harris, S.S., Pino, J.A., Edwards, C.M., DeChellis-Marks, M.R., Bassi, C.D., Garcia-Olivares, J., Amara, S. G., Guajardo, F.G., Sotomayor-Zarate, R., Termini, M., Castañeda, E., Vergara, M., Baust, T., Thields, E. & Torres, G.E. (2019). G protein $\beta\gamma$ subunits play a critical role in the actions of amphetamine. *Translational Psychiatry*, 9(81).
- MacNicol, B. (2017). The biology of addiction. *Can J Anesth/ J Can Anesth*, 64(2): 141-8.
- McKendrick, G. & Graziane, N. (2020). Drug- Induced Conditioned Place Preference and Its Practical Use in Substance Use Disorder Research. *Front. Behav. Neurosci.* 14: 582147. doi: 10.3389/fnbeh.2020.582147
- Méndez-Díaz, M., Ruiz-Contreras, A.E., Prieto-Gómez, B., Romano, A., Caynas, S. & Prospero-García, O. (2010). El cerebro y las drogas, sus mecanismos neurobiológicos. *Salud Mental*. 33: 451-456.
- Moussawi, K. & Kalivas, P. (2010). Group II metabotropic glutamate receptors (mGlu2/3) in drug addiction. *Eur J Pharmacol*, 639(1-3): 115-22.
- Münch, R., Lüthy, R., Blaser, J., & Siegenthaler, W. (1981). Human pharmacokinetics and CSF penetration of clavulanic acid. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 8(1), 29-37.
- Nägerl, UV., Köstinger, G., Anderson, JC, Martin, KA & Bonhoeffer, T. (2007). Protracted synaptogenesis after activity- dependent spinogenesis in hippocampal neurons. *Journal of Neuroscience*, 27(30): 8149-8156.
- Nizzardo, M., Nardini, M., Ronchi, D., Salani, S., Donadini, C., Fortunato, F., Colciago, G., Falcone, M., Simone, C., Riboldi, G., Govoni, A., Bresoli, N., Comi, GP & Corti, S. (2011). Beta-lactam antibiotic offers neuroprotection in a spinal muscular atrophy model by multiple mechanisms. *Exp Neurol*, 229(2): 214-25. doi: 10.1016/j.expneurol.2011.01.017
- Núñez, A., Morales, C., Rivera, M. & González, A. (2006). Nuevos Betalactámicos. *MEDICRIT*, 3(6): 132- 135.
- O'Donovan, S., Sullivan, CR. & McCullumsmith, RE. (2017). The role of glutamate transporters in the pathophysiology of neuropsychiatric disorders, *npj Schizophrenia*, 3:32, doi:10.1038/s41537-017-0037-1
- Ochoa-Aguilar A., Ventura-Martínez R., Sotomayor-Sobrino M. A., Gómez C. & Morales-Espinosa M. R. (2016). Review of antibiotic and non-antibiotic properties of beta-lactam molecules. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*, 15(1), 3-14.
- Ochoa-Aguilar, A., Sotomayor-Sobrino, M. A., Jaimez, R., Rodríguez, R., Plancarte-Sánchez, R., & Ventura-Martinez, R. (2017). Antiallodynic Activity of Ceftriaxone and Clavulanic Acid in Acute Administration is Associated with Serum TNF- α Modulation

- and Activation of Dopaminergic and Opioidergic Systems. *Drug development research*, 78(2), 105-115.
- Olds, J. y Milner, P. (1954) Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of comparative and physiological psychology*. 47(6): 419.
- Organización Mundial de la Salud. (2005). *Neurociencia del consumo y dependencia de sustancias psicoactivas*. Washington DC, Estados Unidos de América: Organización Panamericana de la Salud.
- Philogene-Khalid, H., Simmons, S. J., Muschamp, J. W., & Rawls, S. M. (2017). Effects of ceftriaxone on conditioned nicotine reward in rats. *Behavioural pharmacology*, 28(6), 485.
- Pinto-Pereira, LM., Phillips, M, Ramlal, H, Teemul, K & Prabhakar, P. (2004). Third generation cephalosporin use in a tertiary hospital in Port of Spain, Trinidad: need for an antibiotic policy. *BMC Infect Dis*, 4:49. doi: 10.1186/1471-2334-4-59
- Poole, L. (1944). "Army progress with penicillin." *British Journal of Surgery*, 32(125): 110-111.
- Preda, A. (2018). Stimulants. Medscape. Recuperado de <https://emedicine.medscape.com/article/289007-overview>
- Prus, A. J., James, J: R. & Rosecrans, J.A. (2009). Conditioned Place Preference. En J.J. Buccafusco. (Ed). *Methods of behaviour analysis in neuroscience* 2nd edition. Chapter 4; CRC Press/ Taylor & Francis
- Ramirez, A., & Arbuckle, M. R. (2016). Synaptic plasticity: The role of learning and unlearning in addiction and beyond. *Biological psychiatry*, 80(9), e73-e75.
- Rasmussen, B., Unterwald, E. & Rawls, S. (2011). Glutamate transporter subtype 1 (GLT-1) activator ceftriaxone attenuates amphetamine-induced hyperactivity and behavioural sensitization in rats. *Drug Alcohol Depend*, 118(2-3): 484-488. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2011.03.022.
- Roberts-Wolfe, D. & Kalivas, P. (2015). Glutamate transporter GLT-1 as a therapeutic target for substance use disorders. *CNS Neurol.Disord.Drug Targets* 14, 745–756. doi: 10.2174/1871527314666150529144655
- Robertson, S., Matthies, H. & Galli, A. (2009). A closer look at amphetamine- induced reverse transport and trafficking of the dopamine and norepinephrine transporters. *Mol Neurobiol*. 39: 73-80. DOI 10.1007/s12035-009-8053-4
- Robledo. (2008). Las anfetaminas. *Trastornos Adictivos*. 10(3): 166-74.

- Rothstein, J.D., Patel, S., Regan, M.R., Haenggeli, C., Huang, Y.H., Bergles, D.E. ... Fisher, P.B. (2005). Beta-lactam antibiotics offer neuroprotection by increasing glutamate transporter expression. *Nature*, 433(7021): 73-7. doi: 10.1038/nature03180.
- Savage, S., Joranson, D., Covington, E., Schnoll, S., Heit, H. & Gilson, A. (2003). Definitions related to the medical use of opioids: evolution towards universal agreement. *Journal of Pain and Symptom Management*, 26(1): 655-667. doi.org/10.1016/S0885-3924(03)00219-7
- Sanchis-Segura & Spanagel. (2006). Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview. *Addiction Biology*, 11(1): 2-38
- Sari, Y., Prieto, A. L., Barton, S. J., Miller, B. R., & Rebec, G. V. (2010). Ceftriaxone-induced up-regulation of cortical and striatal GLT1 in the R6/2 model of Huntington's disease. *J. Biomed. Sci.* 17(1):62. doi: 10.1186/1423-0127-17-62
- Sateler, A., Pino, G., López, A., Silva, L., Solari, S., Duffau, B. y Ríos, J. (2019). Nombres populares y clasificación de las drogas de abuso ilícitas en Chile. *Rev. méd. Chile*, 147(12): 1613-1620.
- Schroeder, J.A, Tolman, N.G., McKenna, F.F., Watkins, K.L., Passeri, S.M., Hsu, A.H., Shinn, B.R. & Rawls, S.M. (2014). Clavulanic acid reduces rewarding, hyperthermic and locomotor- sensitizing effects of morphine in rats: A new indication for an old drug? *Drug and Alcohol Dependence*, 142: 41-45.
- Scott, H., Gebhardt, F., Mitrovic, A., Vandenberg, R. & Dodd, P. (2011). Glutamate transporter variants reduce glutamate uptake in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 32(3): 533.e1-11. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.03.008.
- Shan, D., Lucas, E., Drummond, J., Haroutunian, V., Meador-Woodruff, J.H. & McCullumsmith, R.E. (2012). Abnormal expression of glutamate transporters in temporal lobe areas in elderly patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.* 144(1-3): 1–8. doi: 10.1016/j.schres.2012.12.019.
- Simola, N. & Carta, M. (2016). Amphetamine usage, misuse, and addiction processes: an overview. *Neuropathology of drug addictions and substance misuse*. Volume 2. USA: Elsevier.
- Sitte, H. & Freissmuth, M. (2015). Amphetamines, new psychoactive drugs, and the monoamine transporter cycle. *Trends in Pharmacological Sciences*. 36(1): 41-50.
- Suárez, C. & Gudiol, F. (2009). Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 27(2): 116-129.
- Sulzer, D., Sonders, M., Poulsen, N. & Galli, A. (2005). Mechanisms of neurotransmitter release by amphetamines: a review. *Progress in Neurobiology*. 75: 406-433.
- Scofield, M. D., Heinsbroek, J. A., Gipson, C. D., Kupchik, Y. M., Spencer, S., Smith, A. C., Roberts-Wolfe, D. & Kalivas, P. W. (2016). The nucleus accumbens: mechanisms of addiction across drug classes reflect the importance of glutamate homeostasis. *Pharmacological reviews*, 68(3), 816-871.

- Spencer, S. & Kalivas, P. (2017). Glutamate transport: a new bench to bedside mechanism for treating drug abuse. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 20(10): 797-812. doi:10.1093/ijnp/pyx050
- Steinberg, E.E., Boivin, J.R., Saunders, B.T., Witten, I.B., Deisseroth, K. & Janak, P.H. (2014). Positive reinforcement mediated by midbrain dopamine neurons requires D1 and D2 receptor activation in the nucleus accumbens. *PLoS one*; 9(4): e94771.
- Sun, Y., Chen, G., Zou, K. & Zhu, Y. (2018). A Conditioned Place Preference Protocol for Measuring Incubation of Craving in Rats. *J. Vis. Exp.* (141), e58384, doi:10.3791/58384
- Torres, O.V., Tejada, H.A., Natividad, L.A. & O'Dell, L.E. (2008). Enhanced vulnerability to the rewarding effects of nicotine during the adolescent period of development. *Pharmacol Biochem Behav*, 90(4): 658- 663
- Turner, P.V., Brabb, T., Pekow, C. & Vasbinder, M-A. (2011). Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 50 (5): 600- 613
- Tzschentke, T. (2014). Conditioned Place Preference and Aversion. Stolerman I., Price L. (eds). *Encyclopedia of Psychopharmacology*. Springer, Berlin, Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-27772-6_146-2
- (UNODC) United Nations Office on Drugs and Crime. (2020). World Drug Report 2020. United Nations Publications
- U.S. Department of Health and Human Services, Office of the Surgeon General. (2016). *Facing Addiction in America: The Surgeon General's Report on Alcohol, Drugs, and Health*. Washington, DC: HHS.
- Vaillancourt, K., Ernst, C., Mash, D. & Turecki, G. (2017). DNA methylation dynamics and cocaine in the brain: progress and prospects. *Genes*, 8(5). doi:10.3390/genes8050138
- Volkow, N., y Morales, M. (2015) The brain on drugs: from reward to addiction. *Cell*, 162(4): 712-25.
- Wei, J., Pan, X., Pei, Z., Wang, W., Qiu, W., Shi, Z. & Xiao, G. (2012). The beta-lactam antibiotic, ceftriaxone, provides neuroprotective potential via anti-excitotoxicity and anti.inflammation response in a rat model of traumatic brain injury. *J Trauma Acute Care Surg*, 73(3): 654-60. doi: 10.1097/TA.0b013e31825133c0.
- Yates, J. R., Marusich, J. A., Gipson, C.D., Joshua, S.B. & Bardo, M.T. (2012). Amphetamine Conditioned Place Preference in High and Low Impulsive Rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 100(3): 370-376.

- Yimer, EM., Hishe, HZ. & Tuem, KB. (2019). Repurposing of the β -lactam antibiotic, Ceftriaxone for Neurological Disorders: A Review. *Front. Neurosci*, 13:236. doi: 10.3389/fnins.2019.00236
- Yu, J., Ishikawa, M., Wang, J., Schlüter, O.M., Sesack, S. & Dong, Y. (2019). Ventral tegmental area projection regulates glutamatergic transmission in nucleus accumbens. *Scientific Reports*, 9: 18451
- Zhang, Y., Tan, F., Xu, P. & Qu, S. (2016). Recent advance in the relationship between excitatory amino acid transporter and Parkinson's disease. *Neural Plast*, doi: 10.1155/2016/8941327
- Zumkehr, J., Rodriguez-Ortiz, CJ., Cheng, D., Kieu, Z., Wai, T., Hawkins, C., Kilian, J., Lam, S., Medeiros, R. & Kitazawa, M. (2015). Ceftriaxone ameliorates tau pathology and cognitive decline via restoration of glial glutamate transporter in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 36(7): 2260–2271. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.04.005