

Neuroesteroides y adicción alcohólica

Marc Pallarès Año

Institut de Neurociències, Departament de Psicobiologia i Metodologia de les Ciències de la Salut, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, España

Resumen

Los neuroesteroides (NE) son esteroides sintetizados *de novo* en el SNC a partir del colesterol independientemente de las fuentes periféricas. NE como la allopregnanolona (AlloP) actúan como moduladores positivos endógenos del receptor GABA_A, acción similar a la del alcohol y que se relaciona con aspectos de la adicción alcohólica como la tolerancia, el síndrome de abstinencia (SAA), o los efectos ansiolíticos. La AlloP sustituye al alcohol en paradigmas de “drug discrimination”. Este hecho, junto a toda otra serie de pruebas experimentales muestra que los NE participan de manera importante en la adicción alcohólica. El consumo de alcohol provoca un aumento de la concentración de AlloP en plasma (en corteza cerebral e hipocampo en ratas), efecto que aparece incrementado durante la adolescencia, fase crítica para el desarrollo de la adicción. Este efecto se va atenuando (haciendo tolerante) a medida que se desarrolla tolerancia al alcohol. Además, la administración de AlloP aumenta el consumo de alcohol en ratas no dependientes y lo disminuye en ratas dependientes con altos niveles de consumo. Por tanto, parece que pueda existir una espiral de efectos entre alcohol y AlloP: el alcohol aumenta los niveles de AlloP, y este incremento de AlloP podría hacer que el individuo aumentase su consumo de alcohol. Progresivamente se va generando tolerancia, y a medida que aumentan las dosis de alcohol ingeridas y disminuyen los efectos de las dosis iniciales sobre el comportamiento, también se van estabilizando los niveles cerebrales de AlloP. Esto sugiere que la AlloP endógena puede tener un papel crucial en el consumo abusivo de alcohol y por tanto en la génesis del alcoholismo. Durante la abstinencia alcohólica, los niveles de NE en plasma (de humanos y roedores) se reducen, aumentando por tanto la sensibilidad de los receptores GABA_A para los NE. Esto indica que los NE GABA_A positivos, como la AlloP, que ya se están probando en ensayos clínicos como antiepilépticos (ganaxolona), podrían ser una buena estrategia para tratar el síndrome de abstinencia alcohólica (SAA). Por otro lado, NE de perfil opuesto al del alcohol sobre el receptor GABA_A, como el sulfato de pregnenolona (PregS), parecen revertir algunos efectos indeseables de la adicción a drogas, como el deterioro de la capacidad de aprendizaje producido por la coadministración de alcohol y nicotina. Todos estos resultados sitúan a los NE como nuevo sustrato fisiológico neuroquímico diana de muchas acciones del alcohol y presunto implicado en diversos aspectos de la adicción alcohólica.

— Correspondencia a:

Dr. Marc Pallarès, Institut de Neurociències

Departament de Psicobiologia i Metodologia de les Ciències de la Salut. Universitat Autònoma de Barcelona. Edifici B. 08193 Bellaterra, Barcelona. España.

Tel: 93 5812542. Fax: 93 5812001. e-mail: Marc.Pallares@uab.es



Palabras Clave

Neuroesteroides. Allopregnanolona. Sulfato de pregnenolona. Alcoholismo. Adicción. Tolerancia. Síndrome de abstinencia alcohólica.

Summary

Neurosteroids (NS) are steroids synthesized *de novo* in the CNS from cholesterol independently of peripheral sources. NS as allopregnanolone (AlloP) are endogenous positive modulators of the GABA_A receptors. Their neurochemical action is shared with alcohol and is related to several alcohol addiction aspects as tolerance, withdrawal or the anxiolytic effects of alcohol. AlloP substitutes alcohol in drug-discrimination paradigms. Other experimental evidences also show that NS importantly contribute to the alcohol addiction process. Alcohol consumption increases AlloP levels in plasma (in cerebral cortex and hippocampus in rats), and this effect seems to be improved during adolescence, a critical period for the development of addiction. This AlloP increase becomes tolerant at the same time that behavioural tolerance to alcohol comes on. Indeed, AlloP administration increases alcohol intake in non-dependent rats with high levels of consumption. Thus, it seems that there is an interaction between alcohol and NS effects: alcohol increases AlloP levels, and this AlloP increase could induce subsequent higher alcohol consumption levels. Progressively, tolerance develops and, at the same time that the behavioural effects of alcohol decrease also the brain levels of AlloP stabilize. This suggests that endogenous AlloP can play an important role in the alcohol abuse and also in the alcoholism development. Plasmatic NS levels (in humans and rodents) decrease during the alcohol withdrawal, increasing thus GABA_A receptors sensitivity to NS. This data suggest that positive GABA_A modulators, as AlloP, that are being clinically tested as antiepileptic drugs (i.e. ganaxolone), could be used to treat the alcohol withdrawal symptoms. On the other hand, the NS that modulate GABA_A receptors in an opposed manner that alcohol, as pregnenolone sulphate (PregS), seem to prevent some negative effects of drug addiction, as the deterioration of learning induced by the co administration of alcohol and nicotine. These data emphasize the role of endogenous NS as a new physiological system, target of alcohol actions in the CNS and presumably implicated in several aspects of the alcohol addiction.

Key Words

Neurosteroids. Allopregnanolone. Pregnenolone Sulphate. Alcohol. Addiction. Tolerance. Withdrawal.



INTRODUCCIÓN

I.- Concepto de neuroesteroides

Los NE son una subclase de esteroides que pueden ser sintetizados en el SNC *de novo* a partir del colesterol independientemente de las fuentes periféricas (Baulieu, 1981; Mayo et al., 2003). El término esteroide neuroactivo, que se utiliza regularmente en un sentido más general, se refiere a esteroides que independientemente de su origen, son capaces de modificar actividades neurales (Dubrovsky, 2005), y fue propuesto para todos los esteroides naturales o sintéticos que pudieran alterar de forma rápida la excitabilidad neuronal mediante su unión a receptores de membrana de la misma manera que actúan los neurotransmisores (Paul y Purdy, 1992).

El concepto de NE deriva de observaciones hechas en los años 80 por Baulieu (Baulieu, 1981), quien demostró que algunos esteroides como la pregnenolona (Preg), la dihidroepiandrosterona (DHEA) y sus formas sulfatadas (PregS y DHEAS, respectivamente) se encontraban en mayores concentraciones en cerebro que en plasma de roedores. Estudios posteriores mostraron que la concentración de estos esteroides permanecía inalterada en cerebro 15 días después de la extirpación de las glándulas periféricas responsables de la esteroidogénesis (gónadas y corteza adrenal), sugiriendo por tanto que la síntesis de estos esteroides se podría dar en el cerebro (Baulieu, 1998; Corpechot et al., 1993). Además, diversos estudios han demostrado la presencia de los enzimas responsables de la esteroidogénesis en el sistema nervioso. Estos enzimas son capaces de sintetizar esteroides a partir del colesterol, pero también de metabolizar los esteroides periféricos que alcanzan el SN

a través del torrente sanguíneo y de la barrera hematoencefálica. Las principales células esteroidogénicas en el SN son las neuronas y las células gliales: en el SNP las células de Schwann y en el SNC los oligodendrocitos y astrocitos (Tsutsui et al., 2000).

2.- Síntesis, mecanismos de acción y concentraciones cerebrales

La síntesis de los NE se inicia con la conversión enzimática del colesterol a pregnenolona. El paso limitante en la esteroidogénesis parece ser el transporte del colesterol a la membrana mitocondrial interna donde se encuentra el primer enzima esteroidogénico (P450_{scc}), que transforma el colesterol en Preg. Hay dos proteínas que contribuyen en el transporte del colesterol citoplasmático hacia la membrana interna mitocondrial: la proteína de la regulación aguda de la esteroidogénesis (StAR) y el receptor mitocondrial de benzodiazepinas (MBR) (Papadopoulos, 1993). La proteína StAR capta el colesterol de la membrana mitocondrial externa y lo transfiere al MBR, que formaría un canal para el colesterol. A través de este canal, el colesterol accede a la membrana mitocondrial interna, donde será utilizado como sustrato del enzima P450_{scc} (Belelli y Lambert, 2005; Sierra, 2004).

El principal mecanismo de acción de los NE en el SNC es la modulación alostérica de receptores ionotrópicos (Rupprecht y Holsboer, 1999). Prácticamente la totalidad de los receptores ionotrópicos conocidos modifican su función por la acción de los NE (Rupprecht y Holsboer, 1999; Rupprecht, 2003). El efecto de los NE sobre los receptores GABA_A es el que ha sido más extensamente investigado (Akunne et al., 2001; Reddy y Kulkarni, 1998; Reddy et al., 1998; Smith et al., 1998;

Smith, 2002). Ciertos NE, y particularmente los derivados 3 α de la progesterona, actúan como moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA_A. Algunos estudios han mostrado que, con equivalencia de dosis, la activación que provoca la AlloP, uno de estos NE, sobre el receptor GABA es 20 veces más potente que la provocada por benzodiazepinas, y 200 veces más potente que la provocada por barbitúricos (Harrison y Simmonds, 1984). Estudios electrofisiológicos posteriores realizados en neuronas de hipocampo han confirmado que estos NE GABA-positivos actúan sobre el receptor GABA_A por un lado tal como lo hacen los barbitúricos, es decir aumentando la duración de apertura del canal de Cloro, y por otra parte tal como lo hacen las benzodiazepinas, aumentando su frecuencia de apertura (Lambert et al., 1995). Los efectos de la AlloP sobre los receptores GABA_A dependen en buena parte de la composición de subunidades que conforman dichos receptores (Puia et al., 1993; Stell et al., 2003). En este sentido, aunque la AlloP modula todos los tipos de composiciones de subunidades del receptor GABA_A testadas hasta el momento (Puia et al., 1993), parece ser que aquellas que contienen la subunidad α en lugar de la habitual α son especialmente sensibles a este NE (Stell et al., 2003). Conductualmente, al igual que otras sustancias potenciadoras de los receptores GABA_A, como las benzodiazepinas o los barbitúricos, la AlloP también presenta un perfil ansiolítico, anticonvulsivo, analgésico y sedante (Lambert et al., 1995), perfil que sugiere la presencia específica de un sitio de unión en el receptor GABA_A (Lambert et al., 2001).

Otros NE como el PregS o la DHEA actúan como antagonistas no competitivos o moduladores negativos del receptor GABA_A, inhibiendo la entrada de Cloro y disminuyendo

la frecuencia de apertura del canal de Cloro (Gee, 1988; Mienville y Vicini, 1989). Conductualmente, estos NE presentan perfil proconvulsivo (Williamson et al., 2004), facilitador de la memoria (Darnaudery et al., 2002; Mayo et al., 1993; Pallarés et al., 1998), y ansiogénico (Melchior y Ritzmann, 1994). No obstante, se ha de tener en cuenta que la mayor parte de estos NE GABA-negativos, también actúan como moduladores alostéricos positivos del receptor NMDA para el aminoácido excitatorio glutamato (Park-Chung et al., 1994; Wu et al., 1991; Bowlby, 1993; Compagnone y Mellon, 1998). Los efectos conductuales de la modulación positiva del receptor NMDA por los NE incluyen la mejora del aprendizaje y la memoria (Bergeron et al., 1996; Mathis et al., 1996). A un nivel molecular, el PregS incrementa la entrada de Calcio provocada por el glutamato tras su unión con el receptor NMDA, tal como se ha descrito en preparaciones de neuronas hipocampales (Paul y Purdy, 1992). Esta modulación positiva del receptor NMDA incluye tanto el aumento de la frecuencia como de la duración de apertura del canal de Calcio asociado a dicho receptor (Mellon, 1994).

Datos pioneros obtenidos en estudios postmortem mediante la técnica de radioinmunoensayo indicaron que la pregnenolona es el NE más abundante en cerebro humano seguido por la DHEA (Lanthier y Patwardhan, 1986). Los primeros estudios llevados a cabo mediante la técnica de cromatografía de gases asociada a espectrometría de masas para la cuantificación de los niveles de NE en cerebro humano (Weill-Engerer et al., 2002), han proporcionado valores de referencia y están de acuerdo con los estudios previos en los cuales se había utilizado la técnica del radioinmunoensayo (Weill-Engerer et al., 2002). Los niveles más altos de esteroides encontrados



en diferentes regiones cerebrales (hipocampo, amígdala, córtex frontal, estriado, hipotálamo y cerebelo) en orden decreciente son los siguientes: PREG > DHEA > PROG > PREGS > DHEAS >> AlloP (Weill-Engerer et al., 2002). Además, determinadas regiones cerebrales, como por ejemplo el córtex, el hipocampo, los ganglios basales y el cerebelo contienen altos niveles de enzimas esteroideogénicas (Griffin y Mellon, 1999). De todas formas, hay que tener en cuenta que los niveles de NE no son estáticos sino que están sujetos a cambios dinámicos, como por ejemplo durante las situaciones de estrés, el ciclo menstrual, los últimos meses del embarazo, o en respuesta a la ingestión de sustancias psicoactivas como el alcohol (Paul y Purdy, 1992; Morrow et al., 2001; Reddy et al., 2001). La mayor parte de los estudios realizados en humanos se han centrado en los niveles de DHEA y DHEAS, que son los dos NE más abundantes en plasma y en fluido cerebroespinal (Guaso et al., 1996; Orentreich et al., 1992), y han mostrado que los niveles circulantes de estos NE disminuyen marcadamente con la edad, alcanzando a los 80 años niveles que equivalen al 20% de los observados a los 20 años de edad (Orentreich et al., 1992; Moffat et al., 2002). La fluctuación de los niveles corticales de AlloP a lo largo de la vida puede constituir un importante factor relacionado con en el estrés, la memoria, la ansiedad o la conducta sexual, aspectos que están típicamente alterados en edades avanzadas y que se pueden relacionar con la variedad de trastornos afectivos observados en la vejez (Bernardi et al., 1998).

NEUROESTEROIDES Y ALCOHOLISMO

Neuroquímicamente, tanto el alcohol como los NE actúan sobre el sistema GABAérgico, y

por tanto es esperable una interacción entre ellos. A nivel molecular, se ha observado que la AlloP y el etanol producen algunos efectos similares en los receptores GABA_A (Grobin et al., 1998; Silvers et al., 2003). Pero además, los efectos conductuales del alcohol son marcadamente similares a los efectos de los NE GABA-positivos, de las benzodiazepinas y de los barbitúricos, es decir, de los agentes moduladores positivos del receptor GABA_A en general. El alcohol presenta un perfil ansiolítico, sedante/hipnótico, anticonvulsivo, y provoca incoordinación motora (Frye et al., 1981; LaBuda y Fuchs, 2002; Majchrowicz, 1975). También produce deterioro cognitivo (Matthews et al., 2002; Givens y McMahon, 1997; Matthews et al., 1995 y 1999), y a altas concentraciones actúa como anestésico y depresor respiratorio (Morrow et al., 2001; Koch-Weser et al., 1976). Las propiedades ansiolíticas del alcohol se han demostrado en una amplia variedad de estudios con animales utilizando diferentes paradigmas o modelos de ansiedad (LaBuda y Fuchs, 2002; Belzung y Berton, 1997; LaBuda y Hale, 2000; Martin-García y Pallarès, 2005d). En este sentido, los NE endógenos que actúan como agonistas del receptor GABA_A, especialmente la AlloP, parecen mediar o modular los efectos ansiolíticos del alcohol. Por ejemplo, se ha encontrado que el pretratamiento con finasteride, inhibidor del enzima 5 α -reductasa que convierte la progesterona en AlloP, atenúa la acción ansiolítica del etanol (Hirani et al., 2005). Parece, por tanto, que la presencia de AlloP endógena es necesaria para que el alcohol presente su perfil ansiolítico. Trabajos muy recientes muestran, además, que el tratamiento crónico con progesterona, precursora de la AlloP, aumenta la tolerancia a los efectos ansiolíticos del alcohol (Sharma et al., 2007), lo que sugiere la posible existencia de tolerancia

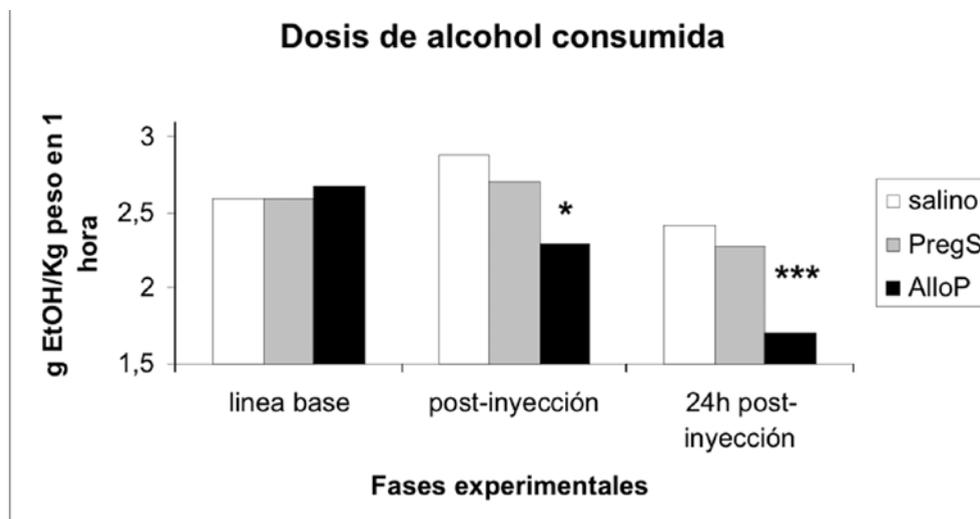
cruzada entre alcohol y NE GABA-positivos para los efectos ansiolíticos.

Diversos estudios realizados en animales han relacionado a los NE con los efectos conductuales específicos del etanol (Morrow et al., 2001; Barbaccia et al., 1999; Finn et al., 2004; VanDoren et al., 2000). Se ha descrito que la administración sistémica de alcohol produce un incremento en la concentración de AlloP en corteza cerebral (Morrow et al., 2001; VanDoren et al., 2000) suficiente para producir potenciación de los receptores GABA_A (Morrow et al., 1998). Los NE moduladores positivos del receptor GABA_A también sustituyen al alcohol en paradigmas de discriminación de drogas (Bowen et al., 1999). El efecto del alcohol sobre la concentración de AlloP en cerebro parece ser bifásico, de manera que el efecto máximo se encuentra a dosis de 2.5 g/Kg de etanol mientras que el efecto disminuye a dosis mayores (Morrow et al., 2001). Este aumento de las concentraciones de AlloP cerebrales (en corteza cerebral y hipocampo) provocado por el alcohol también se ha observado en ratas seleccionadas genéticamente para preferir alcohol, en comparación con animales no preferidores (Barbaccia et al., 1999). En humanos se ha observado que el alcohol aumenta los niveles de AlloP en plasma, pero especialmente en hombres (Torres y Ortega, 2004) y mujeres (Torres y Ortega, 2003) adolescentes. El alcoholismo en los adolescentes es causa de creciente preocupación en los países industrializados. Además, el abuso de alcohol en el adulto está directamente relacionado con los patrones de consumo durante las etapas de niñez y adolescencia (Altarriba y Bascones, 2006). En España, 6 de cada 10 jóvenes entre los 12-18 años se confiesan consumidores de bebidas alcohólicas (Altarriba y Bascones, 2006). El aumento

de la ansiedad, la irritabilidad y la depresión entre los adolescentes puede inducirlos a la búsqueda de las propiedades gratificantes y ansiolíticas del alcohol, y los niveles elevados de AlloP encontrados en estos sujetos podrían potenciar sus efectos (Torres y Ortega, 2004). Así pues, los niveles endógenos de NE podrían estar relacionados con la preferencia por el alcohol, y por tanto jugar un papel importante en su consumo y en su efecto reforzante. En este sentido, se ha observado que la AlloP aumenta la ingesta de alcohol en ratas no dependientes (Janak et al., 1998) y con niveles bajos de consumo (Morrow et al., 2001). Este efecto depende de la historia previa de consumo de alcohol, ya que en ratas dependientes del alcohol, y por tanto con altos niveles de consumo, la AlloP provoca un descenso de éste (Morrow et al., 2001). En trabajos en los que se utilizan programas de refuerzo de la respuesta operante a la palanca para obtener alcohol, se ha verificado que la dosis de 3 mg/Kg de AlloP, pero no la de 1 mg/Kg o la de 10 mg/Kg, produce un aumento de la respuesta a la palanca. En cambio, la dosis mayor de AlloP (10 mg/Kg) produce una disminución de la respuesta (Janak et al., 1998). En nuestro laboratorio (ver figura 1), hemos verificado que la administración de AlloP directamente en el hipocampo (barras negras en figura 1), estructura cerebral rica en NE y vinculada con muchos de los efectos conductuales del alcoholismo, provoca una disminución del consumo voluntario de alcohol en ratas que han ingerido voluntariamente dosis altas de alcohol durante periodos muy largos de tiempo (Martin-García et al., 2007).

Por otro lado, se ha descrito que mientras que la administración aguda de etanol eleva los niveles de AlloP en cerebro, el consumo crónico no alteraría los niveles de AlloP, ya que

Figura 1: La administración de AlloP en hipocampo disminuye el consumo de alcohol en sujetos que han ingerido dosis elevadas de alcohol durante períodos prolongados de tiempo. * indica diferencias significativas respecto a la línea base. *: $p < 0,05$; ***: $p < 0,001$. Publicado en Martín-García et al., 2007.

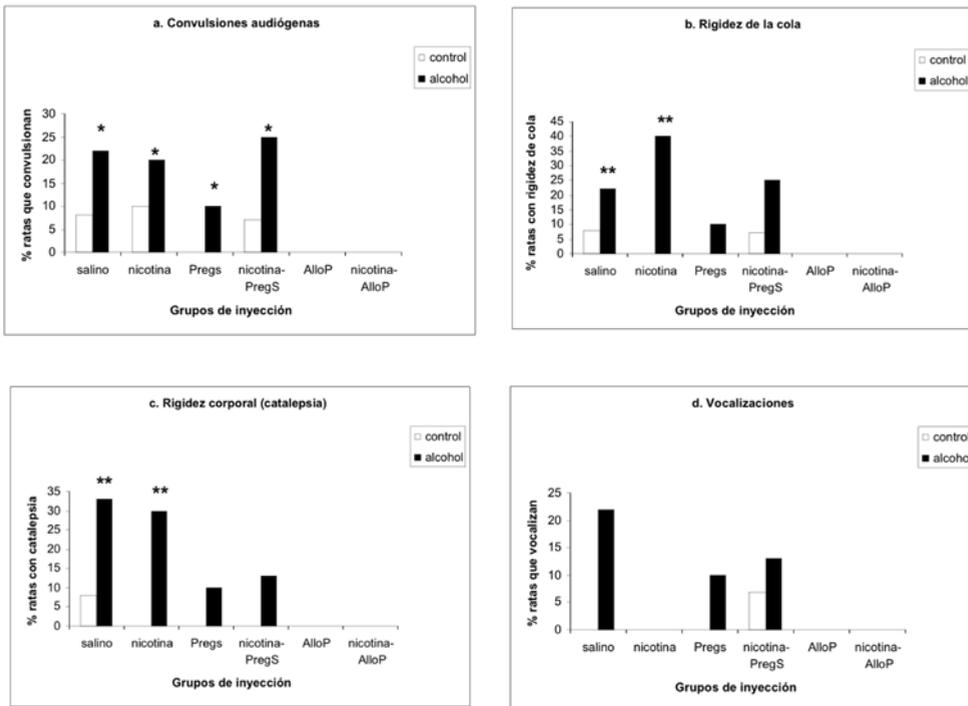


ratas dependientes no muestran niveles elevados de AlloP en corteza cerebral (Manis et al., 1998). Por tanto es plausible que el desarrollo de tolerancia a los efectos del etanol implique una reducción del aumento de AlloP inducido por el etanol (Morrow et al., 2001). Es decir, que si la AlloP contribuye a los efectos del alcohol, es predecible que estos efectos estén ausentes en animales con tolerancia al etanol. Por tanto, la exposición prolongada al etanol reduciría su habilidad para aumentar los niveles de AlloP en cerebro, pero al mismo tiempo la disminución de la concentración de AlloP contribuiría a la reducida repuesta del alcohol (tolerancia) (Morrow et al., 2001). Así, parece que pueda existir una espiral de efectos entre alcohol y AlloP: el alcohol aumenta los niveles de AlloP, y este incremento de AlloP podría

hacer que el individuo aumentase su consumo de alcohol. Progresivamente se va generando tolerancia, y a medida que aumentan las dosis de alcohol ingeridas y disminuyen los efectos de las dosis iniciales sobre el comportamiento, también se van estabilizando los niveles cerebrales de AlloP. Esto sugiere que la AlloP endógena puede tener un papel crucial en el consumo abusivo de alcohol y por tanto en la génesis del alcoholismo.

Otros aspectos de la tolerancia, como la tolerancia condicionada, también parecen involucrar a los NE. La tolerancia condicionada implica que el proceso de tolerancia es dependiente del entorno, ya que determinados cambios ambientales pueden provocar la desaparición súbita de la tolerancia previamente adquirida. El estrés provocado por la situación

Figura 2: La administración de AlloP en hipocampo disminuye los síntomas de la abstinencia al alcohol (evaluados 48 horas después de la retirada de la droga) en ratas han ingerido dosis elevadas de alcohol durante períodos prolongados de tiempo. * indica diferencias significativas respecto a los grupos AlloP y nicotina-AlloP. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$. Publicado en Martín-García et al., 2005a.



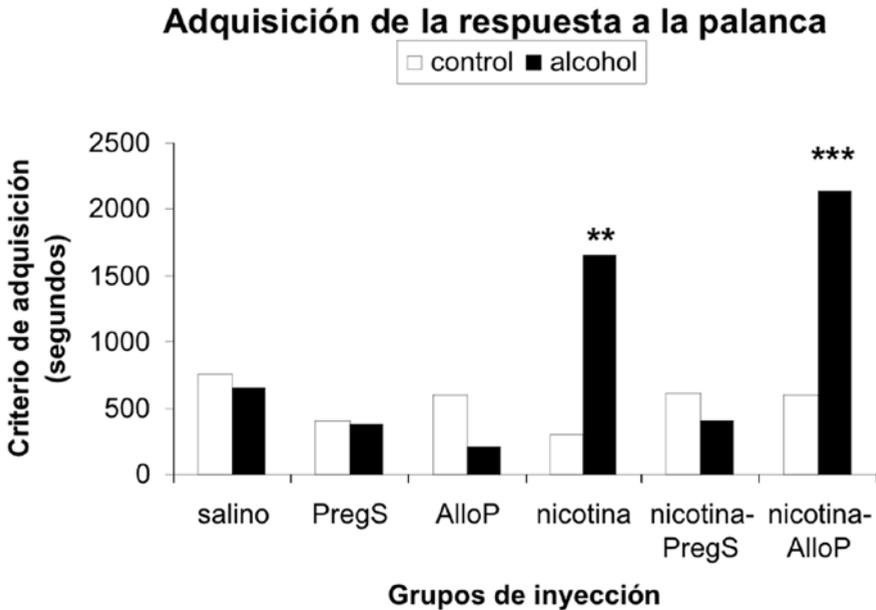
nueva activa el eje hipotálamo-hipófisis-corteza adrenal, lo cual produce un aumento de los niveles de AlloP en plasma y cerebro. Según la hipótesis propuesta más arriba, este aumento de la concentración de AlloP, a su vez, revertiría la tolerancia y aumentaría por tanto los efectos del alcohol (Morrow et al., 1998 y 2001). Todos estos datos sugieren que, en general, la interacción entre estrés, alcohol y NE puede resultar en cambios plásticos moleculares y funcionales en la neurotransmisión

GABAérgica inhibitoria (Biggio et al., 2007), implicada tanto en la tolerancia a los efectos depresores del alcohol como en los efectos del estrés y de los NE sobre la conducta.

La tolerancia y la dependencia del alcohol están relacionadas con una progresiva regulación a la baja del receptor GABA_A, que redundaría en una pérdida de sensibilidad del sistema GABAérgico inhibitorio. El aumento de la ansiedad y de la susceptibilidad a las convulsiones que se da en animales y en humanos



Figura 3: La administración de nicotina en hipocampo en sujetos alcohólicos empeora la adquisición de la respuesta a la palanca. Este efecto se mantiene con la administración sucesiva de AlloP, y se neutraliza con la de PregS. * indica diferencias significativas respecto a los grupos alcohol-salino y control-salino. **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$. Publicado en Martín-García y Pallarès, 2005b.



dependientes durante la abstinencia al alcohol, parece estar mediado por los cambios en la neurotransmisión GABAérgica provocados por la continua exposición del receptor GABA_A a la droga (Grobin et al., 1998; Devaud et al., 1996 y 1997). Se ha observado que durante la abstinencia al alcohol los niveles endógenos de AlloP se reducen, con lo cual se genera un aumento de la sensibilidad de los receptores GABA_A a los NE (Devaud et al., 1996). Ratonés genéticamente preferidores de alcohol en situación de abstinencia (Romeo et al., 1996), y humanos alcohólicos abstinentes (Finn et al., 2000), presentan niveles marca-

damente reducidos de NE en plasma. Estos niveles bajos de NE, además de contribuir en las consecuencias negativas de la sintomatología del síndrome de abstinencia, también podrían estar relacionados con el *craving* para el alcohol que está presente en los sujetos abstinentes, y por tanto participar en los procesos de recaída. La AlloP podría, pues, ser un buen candidato para el tratamiento de los síntomas de abstinencia ya que no parece presentar tolerancia cruzada con el alcohol para los efectos depresores, que sí se da en el caso de las benzodiacepinas (Morrow et al., 2001). La posible utilidad de la AlloP para disminuir



el *craving* por alcohol y por tanto para evitar las recaídas no ha sido todavía evaluada en animales. Respecto a su utilidad en el síndrome de abstinencia, estudios recientes realizados en nuestro laboratorio (ver figura 2) muestran que después de 3 inyecciones intrahipocampales de AlloP, este NE elimina las convulsiones (figura 2a) y la rigidez corporal (figura 2c) y de la cola (figura 2b), signos del síndrome de abstinencia al alcohol, en animales que se han hecho adictos de manera voluntaria después de largos períodos de consumo de la droga (Martin-García y Pallarès, 2005a).

En este sentido, mediante estudios con modelos animales genéticos, se ha visto que hay una susceptibilidad genética a las convulsiones durante el síndrome de abstinencia alcohólica que correlaciona positivamente con la insensibilidad a los efectos anticonvulsivos de la AlloP, de este modo, una mayor sensibilidad a los NE endógenos puede ser un factor protector contra las convulsiones (Finn et al., 2004). Coherentemente, la AlloP administrada directamente en el hipocampo (estructura cerebral "modelo" en los estudios *in vivo* e *in vitro* de epilepsia) suprime las convulsiones audiógenas inducidas por la administración de nicotina (Martin-García y Pallarès, 2005c).

Por otro lado, el PregS, NE de perfil opuesto al del alcohol sobre el receptor GABA_A y también sobre el NMDA, y que por tanto actúa como modulador alostérico negativo del receptor GABA-A y positivo del NMDA, puede neutralizar algunos de los efectos perjudiciales de la adicción a drogas, como es el deterioro de la capacidad de aprendizaje que provoca la combinación de alcohol y nicotina (Martin-García y Pallarès, 2005b). Este efecto se observa en la figura 3 comparando las barras negras (sujetos alcohólicos) de los grupos "nicotina", "nicotina-PregS" y "nicotina-AlloP". Un mayor tamaño de la barra indica un mayor tiempo para realizar el aprendizaje.

En resumen, las alteraciones en los niveles de NE en cerebro pueden constituir un importante factor que controla la expresión de los receptores GABA_A y la sensibilidad de estos receptores al alcohol, por tanto, pueden estar implicadas en procesos como la preferencia, la tolerancia y la dependencia del alcohol.

CONCLUSIONES

Los datos experimentales sugieren que: (1) la tolerancia y la dependencia (síndrome de abstinencia) al alcohol están relacionadas con alteraciones en los niveles endógenos de NE GABA-positivos; (2) los efectos ansiolíticos del alcohol dependen de la acción de los NE sobre el receptor GABA-A; (3) algunos aspectos del alcoholismo como el consumo abusivo en fases iniciales o la recaída podrían estar relacionados con las alteraciones de los niveles de NS cerebrales; y (4) los NE de perfil opuesto al alcohol sobre el receptor GABA-A podrían revertir algunos efectos negativos de la adicción a drogas, como el deterioro del aprendizaje provocado por la administración conjunta de alcohol y nicotina. Todos estos datos enfatizan que el estudio de la función cerebral de los NE, de sus efectos sobre la conducta y de sus mecanismos de acción en las sinapsis, es de especial relevancia ya que podría aportar luz a la etiología de diferentes patologías que afectan al sistema nervioso, y entre ellas los procesos de adicción a drogas, especialmente al alcohol. Igualmente, en un futuro no demasiado lejano, estos estudios podrían abrir una nueva ventana terapéutica con el desarrollo de prometedores fármacos de nueva factura basados en la química de los NE.



AGRADECIMIENTOS: Ministerio de Educación y Ciencia (Proyecto SEJ2006-14792), Universitat Autònoma de Barcelona (Proyecto PNL2004-33)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akunne HC, Zoski KT, Whetzel SZ, Cordon JJ, Brandon RM, Roman F, and Pugsley TA. Neuropharmacological profile of a selective sigma ligand, igmesine: a potential antidepressant. *Neuropharmacology* 2001; 41: 138-149.

Altarriba FX, Bascones A. Libro blanco sobre la relación entre adolescencia y alcohol en España 2006. Fundación Alcohol y Sociedad; 2006. (www.alcoholysociedad.org/esp/pdf/libro_blanco2.pdf)

Barbaccia ML, Affricano D, Trabucchi M, Purdy RH, Colombo G, Agabio R, and Gessa GL. Ethanol markedly increases "GABAergic" neurosteroids in alcohol-preferring rats. *Eur J Pharmacol* 1999; 384: R1-R2.

Baulieu, E.E., Steroid hormones in the brain: several mechanisms? In: Fuxe, K., Gustafsson, J. A., Weterberg, L. (Eds.), *Steroid Hormone Regulation of the Brain*, Pergamon Press, Oxford, 1981, pp. 3-14.

Baulieu EE. Neurosteroids: a novel function of the brain. *Psychoneuroendocrinology* 1998; 23: 963-987.

Belelli D and Lambert JJ. Neurosteroids: endogenous regulators of the GABA(A) receptor. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6: 565-575.

Belzung C and Berton F. Further pharmacological validation of the BALB/c neophobia in the free exploratory paradigm as an animal model of trait anxiety. *Behav Pharmacol* 1997; 8: 541-548.

Bergeron R, de Montigny C, and Debonnel G. Potentiation of neuronal NMDA response

induced by dehydroepiandrosterone and its suppression by progesterone: effects mediated via sigma receptors. *J Neurosci* 1996; 16: 1193-1202.

Bernardi F, Salvestroni C, Casarosa E, Nappi RE, Lanzone A, Luisi S, Purdy RH, Petraglia F, and Genazzani AR. Aging is associated with changes in allopregnanolone concentrations in brain, endocrine glands and serum in male rats. *Eur J Endocrinol* 1998; 138: 316-321.

Biggio G, Concas A, Follesa P, Sanna E, Serra M. Stress, ethanol and neuroactive steroids. *Pharmacol Ther* 2007; en prensa.

Bilkei-Gorzo A, Gyertyan I, and Levay G. mCPP-induced anxiety in the light-dark box in rats--a new method for screening anxiolytic activity. *Psychopharmacology* 1998; 136: 291-298.

Bowen CA, Purdy RH, and Grant KA. Ethanol-like discriminative stimulus effects of endogenous neuroactive steroids: effect of ethanol training dose and dosing procedure. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289: 405-411.

Bowlby MR. Pregnenolone sulfate potentiation of N-methyl-D-aspartate receptor channels in hippocampal neurons. *Mol Pharmacol* 1993; 43: 813-819.

Compagnone NA and Mellon SH. Dehydroepiandrosterone: a potential signalling molecule for neocortical organization during development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 4678-4683.

Corpechot C, Young J, Calvel M, Wehrey C, Veltz JN, Touyer G, Mouren M, Prasad VV, Banner C, and Sjoval J. Neurosteroids: 3 alpha-hydroxy-5 alpha-pregnan-20-one and its precursors in the brain, plasma, and steroidogenic glands of male and female rats. *Endocrinology* 1993; 133: 1003-1009.

Darnaudery M, Pallares M, Piazza PV, Le Moal M, and Mayo W. The neurosteroid pregnenolone sulfate infused into the medial septum nucleus increases hippocampal acetylcholine and spatial memory in rats. *Brain Res* 2002; 951: 237-242.

Devaud LL, Fritschy JM, Sieghart W, and Morrow AL. Bidirectional alterations of GABA(A) receptor subunit peptide levels in rat cortex during chronic ethanol consumption and withdrawal. *J Neurochem* 1997; 69: 126-130.

Devaud LL, Purdy RH, Finn DA, and Morrow AL. Sensitization of gamma-aminobutyric acid A receptors to neuroactive steroids in rats during ethanol withdrawal. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 278: 510-517.

Dubrovsky BO. Steroids, neuroactive steroids and neurosteroids in psychopathology. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29 (2):169-92.

Finn DA, Ford MM, Wiren KM, Roselli CE, and Crabbe JC. The role of pregnane neurosteroids in ethanol withdrawal: behavioral genetic approaches. *Pharmacol Ther* 2004; 101: 91-112.

Finn DA, Gallaher EJ, and Crabbe JC. Differential change in neuroactive steroid sensitivity during ethanol withdrawal. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 292: 394-405.

Frye GD, Chapin RE, Vogel RA, Mailman RB, Kilts CD, Mueller RA, and Breese GR. Effects of acute and chronic 1,3-butanediol treatment on central nervous system function: a comparison with ethanol. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 216: 306-314.

Geer KW. Steroid modulation of the GABA/benzodiazepine receptor-linked chloride ionophore. *Mol Neurobiol* 1988; 2: 291-317.

Givens B and McMahon K. Effects of ethanol on nonspatial working memory and attention in rats. *Behav Neurosci* 1997; 111: 275-282.

Griffin LD and Mellon SH. Selective serotonin reuptake inhibitors directly alter activity of neurosteroidogenic enzymes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 13512-13517.

Grobin AC, Matthews DB, Devaud LL, and Morrow AL. The role of GABA(A) receptors in the acute and chronic effects of ethanol. *Psychopharmacology* 1998; 139: 2-19.

Guazzo EP, Kirkpatrick PJ, Goodyer IM, Shiers HM, and Herbert J. Cortisol, dehydroepiandrosterone (DHEA), and DHEA sulfate in the cerebrospinal fluid of man: relation to blood levels and the effects of age. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3951-3960.

Harrison NL and Simmonds MA. Modulation of the GABA receptor complex by a steroid anaesthetic. *Brain Res* 1984; 323: 287-292.

Hirani K, Sharma AN, Jain NS, Ugale RR, and Chopde CT. Evaluation of GABAergic neuroactive steroid 3alpha-hydroxy-5alpha-pregnane-20-one as a neurobiological substrate for the anti-anxiety effect of ethanol in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2005; 180: 267-278.

Janak PH, Redfern JE, and Samson HH. The reinforcing effects of ethanol are altered by the endogenous neurosteroid, allopregnanolone. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22: 1106-1112.

Janis GC, Devaud LL, Mitsuyama H, and Morrow AL. Effects of chronic ethanol consumption and withdrawal on the neuroactive steroid 3alpha-hydroxy-5alpha-pregnan-20-one in male and female rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22: 2055-2061.



Koch-Weser J, Sellers EM, and Kalant H. Alcohol intoxication and withdrawal. *N Engl J Med* 1976; 294: 757-762.

LaBuda CJ and Hale RL. Anxiety in mice following acute aspartame and ethanol exposure. *Alcohol* 2000; 20: 69-74.

LaBuda CJ and Fuchs PN. Catecholamine depletion by reserpine blocks the anxiolytic actions of ethanol in the rat. *Alcohol* 2002; 26: 55-59.

Lambert JJ, Belelli D, Hill-Venning C, and Peters JA. Neurosteroids and GABA_A receptor function. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16: 295-303.

Lambert JJ, Belelli D, Harney SC, Peters JA, and Frenguelli BG. Modulation of native and recombinant GABA(A) receptors by endogenous and synthetic neuroactive steroids. *Brain Res Brain Res Rev* 2001; 37: 68-80.

Lanthier A and Patwardhan VV. Sex steroids and 5-en-3 beta-hydroxysteroids in specific regions of the human brain and cranial nerves. *J Steroid Biochem* 1986; 25: 445-449.

Majchrowicz E. Induction of physical dependence upon ethanol and the associated behavioral changes in rats. *Psychopharmacologia* 1975; 43: 245-254.

Martín-García E, Darbra S, and Pallarès M. Intrahippocampal allopregnanolone decreases voluntary chronic alcohol consumption in non-selected rats. *Prog Neuropsychopharm Biol Psychiatry* 2007; 31 (3): 823-31.

Martin-Garcia E and Pallares M. Effects of intrahippocampal nicotine and neurosteroids administration on withdrawal in voluntary and chronic alcohol-drinking rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 2005a; 29: 1654-1663.

Martin-García E and Pallarès M. The neurosteroid pregnenolone sulfate neutralizes the learning impairment induced by intrahippocampal nicotine in alcohol-drinking rats. *Neuroscience* 2005b; 136: 1109-1119.

Martin-García E and Pallarès M. The intrahippocampal administration of the neurosteroid allopregnanolone sulfate blocks the audiogenic seizures induced by nicotine. *Brain Res* 2005c; 1062(1-2): 144-50.

Martin-García E and Pallarès M. Intrahippocampal nicotine and neurosteroids effects on the anxiety-like behaviour in voluntary and chronic alcohol-drinking rats. *Behav Brain Res* 2005d; 164: 117-127.

Mathis C, Vogel E, Cagniard B, Criscuolo F, and Ungerer A. The neurosteroid pregnenolone sulfate blocks deficits induced by a competitive NMDA antagonist in active avoidance and lever-press learning tasks in mice. *Neuropharmacology* 1996; 35: 1057-1064.

Matthews DB, Ilgen M, White AM, and Best PJ. Acute ethanol administration impairs spatial performance while facilitating nonspatial performance in rats. *Neurobiol Learn Mem* 1999; 72: 169-179.

Matthews DB, Morrow AL, Tokunaga S, and McDaniel JR. Acute ethanol administration and acute allopregnanolone administration impair spatial memory in the Morris water task. *Alcohol Clin Exp Res* 2002; 26: 1747-1751.

Matthews DB, Simson PE, and Best PJ. Acute ethanol impairs spatial memory but not stimulus/response memory in the rat. *Alcohol Clin Exp Res* 1995; 19: 902-909.

Mayo W, Dellu F, Robel P, Cherkaoui J, Le Moal M, Baulieu EE, and Simon H. Infusion of neurosteroids into the nucleus basalis magno-

cellularis affects cognitive processes in the rat. *Brain Res* 1993; 607: 324-328.

Mayo W, George O, Darbra S, Bouyer JJ, Vallee M, Darnaudery M, Pallares M, Lemaire-Mayo V, Le Moal M, Piazza PV, and Abrous N. Individual differences in cognitive aging: implication of pregnenolone sulfate. *Prog Neurobiol* 2003; 71: 43-48.

Mellon SH. Neurosteroids: biochemistry, modes of action, and clinical relevance. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 1003-1008.

Melchior CL and Ritzmann RF. Pregnenolone and pregnenolone sulfate, alone and with ethanol, in mice on the plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav* 1994; 48: 893-897.

Mienville JM and Vicini S. Pregnenolone sulfate antagonizes GABAA receptor-mediated currents via a reduction of channel opening frequency. *Brain Res* 1989; 489: 190-194.

Moffat SD, Zonderman AB, Metter EJ, Blackman MR, Harman SM, and Resnick SM. Longitudinal assessment of serum free testosterone concentration predicts memory performance and cognitive status in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5001-5007.

Morrow AL, VanDoren MJ, and Devaud LL. Effects of progesterone or neuroactive steroid? *Nature* 1998; 395: 652-653.

Morrow AL, VanDoren MJ, Fleming R, and Penland S. Ethanol and neurosteroid interactions in the brain. *Int Rev Neurobiol* 2001; 46: 349-377.

Morrow AL, VanDoren MJ, Penland SN, and Matthews DB. The role of GABAergic neuroactive steroids in ethanol action, tolerance and dependence. *Brain Res Brain Res Rev* 2001; 37: 98-109.

Orentreich N, Brind JL, Vogelmann JH, Andres R, and Baldwin H. Long-term longitudinal

measurements of plasma dehydroepiandrosterone sulfate in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1002-1004.

Pallarès M, Darnaudery M, Day J, Le Moal M, and Mayo W. The neurosteroid pregnenolone sulfate infused into the nucleus basalis increases both acetylcholine release in the frontal cortex or amygdala and spatial memory. *Neuroscience* 1998; 87: 551-558.

Papadopoulos V. Peripheral-type benzodiazepine/diazepam binding inhibitor receptor: biological role in steroidogenic cell function. *Endocr Rev* 1993; 14: 222-240.

Park-Chung M, Wu FS, and Farb DH. 3 alpha-Hydroxy-5 beta-pregnan-20-one sulfate: a negative modulator of the NMDA-induced current in cultured neurons. *Mol Pharmacol* 1994; 46: 146-150.

Paul SM and Purdy RH. Neuroactive steroids. *FASEB J* 1992; 6: 2311-2322.

Puia G, Ducic I, Vicini S, and Costa E. Does neurosteroid modulatory efficacy depend on GABAA receptor subunit composition? *Receptors Channels* 1993; 1: 135-142.

Reddy DS, Kim HY, and Rogawski MA. Neurosteroid withdrawal model of perimenstrual catamenial epilepsy. *Epilepsia* 2001; 42: 328-336.

Reddy DS and Kulkarni SK. The role of GABA-A and mitochondrial diazepam-binding inhibitor receptors on the effects of neurosteroids on food intake in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 1998; 137: 391-400.

Reddy DS, Kaur G, and Kulkarni SK. Sigma (sigma1) receptor mediated anti-depressant-like effects of neurosteroids in the Porsolt forced swim test. *Neuroreport* 1998; 9: 3069-3073.

Romeo E, Brancati A, De Lorenzo A, Fucci P, Furnari C, Pompili E, Sasso GF, Spalletta G,



Troisi A, and Pasini A. Marked decrease of plasma neuroactive steroids during alcohol withdrawal. *Clin Neuropharmacol* 1996; 19: 366-369.

Rupprecht R and Holsboer F. Neuroactive steroids: mechanisms of action and neuropsychopharmacological perspectives. *Trends Neurosci* 1999; 22: 410-416.

Rupprecht R. Neuroactive steroids: mechanisms of action and neuropsychopharmacological properties. *Psychoneuroendocrinology* 2003; 28: 139-168.

Sharma AN, Chopde CT, Hirani K, Kokare DM, Ugale RR. Chronic progesterone treatment augments while dehydroepiandrosterone sulphate prevents tolerance to ethanol anxiolysis and withdrawal anxiety in rats. *Eur J Pharmacol* 2007; en prensa.

Sierra A. Neurosteroids: the StAR protein in the brain. *J Neuroendocrinol* 2004; 16: 787-793.

Silvers JM, Tokunaga S, Berry RB, White AM, and Matthews DB. Impairments in spatial learning and memory: ethanol, allopregnanolone, and the hippocampus. *Brain Res Brain Res Rev* 2003; 43: 275-284.

Smith SS, Gong QH, Hsu FC, Markowitz RS, French-Mullen JM, and Li X. GABA(A) receptor alpha4 subunit suppression prevents withdrawal properties of an endogenous steroid. *Nature* 1998; 392: 926-930.

Smith SS. Withdrawal properties of a neuroactive steroid: implications for GABA(A) receptor gene regulation in the brain and anxiety behavior. *Steroids* 2002; 67: 519-528.

Stell BM, Brickley SG, Tang CY, Farrant M, and Mody I. Neuroactive steroids reduce neuronal excitability by selectively enhancing tonic inhibition mediated by delta subunit-

containing GABAA receptors. *Proc Natl Acad Sci* 2003; 100: 14439-14444.

Torres JM and Ortega E. Alcohol intoxication increases allopregnanolone levels in female adolescent humans. *Neuropsychopharmacology* 2003; 28(6): 1207-9.

Torres JM and Ortega E. Alcohol intoxication increases allopregnanolone levels in male adolescent humans. *Psychopharmacology* 2004; 172: 352-355.

Tsutsui K, Ukena K, Usui M, Sakamoto H, and Takase M. Novel brain function: biosynthesis and actions of neurosteroids in neurons. *Neurosci Res* 2000; 36: 261-273.

VanDoren MJ, Matthews DB, Janis GC, Grobin AC, Devaud LL, and Morrow AL. Neuroactive steroid 3alpha-hydroxy-5alpha-pregnan-20-one modulates electrophysiological and behavioral actions of ethanol. *J Neurosci* 2000; 20: 1982-1989.

Weill-Engerer S, David JP, Szadovitch V, Liere P, Eychenne B, Pianos A, Schumacher M, Delacourte A, Baulieu EE, and Akwa Y. Neurosteroid quantification in human brain regions: comparison between Alzheimer's and nondemented patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5138-5143.

Williamson J, Mchedlishvili Z, and Kapur J. Characterization of the convulsant action of pregnenolone sulfate. *Neuropharmacology* 2004; 46: 856-864.

Wu FS, Gibbs TT, and Farb DH. Pregnenolone sulfate: a positive allosteric modulator at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Mol Pharmacol* 1991; 40: 333-336.