



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE PSICOBIOLOGÍA

Unidad de Investigación “Psicobiología de las Drogodependencias”

IMPLICACIÓN DEL SISTEMA
SEROTONINÉRGICO Y DOPAMINÉRGICO
EN LOS EFECTOS REFORZANTES DE LA MDMA.

Programa de Doctorado: Psicobiología.

Tesis Doctoral presentada por:

Concepción Roger Sánchez

Dirigida por

Dra. María Asunción Aguilar Calpe.

Valencia, 2012



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA

La Dra. Maria Asunción Aguilar Calpe, Profesora Titular de Psicobiología de la Unidad de Investigación Psicobiología de las Drogodependencias, del Departamento de Psicobiología de la Universitat de València,

CERTIFICA

Que la tesis doctoral presentada por Doña Concepción Roger Sánchez, con el título “Implicación del sistema serotoninérgico y dopaminérgico en los efectos reforzantes de la MDMA” ha sido realizada bajo su dirección y que tras haberla examinado hace constar su autorización para que se realicen los trámites conducentes a su defensa.

Y para que conste a los efectos oportunos, firma el presente certificado en Valencia a 21 de marzo de 2012.

Fdo. Maria A. Aguilar

A mi marido, Alberto.

AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar quiero agradecer de manera especial a mi directora, la Dra. Asunción Aguilar. Creo que he tenido suerte al tenerla como directora, ya que siempre me ha ayudado en lo que he necesitado, es una persona cercana, accesible, respetuosa y amable, por lo que trabajar con ella siempre es fácil. Muchas gracias Sunsi.

También me considero afortunada por formar parte de la Unidad de Investigación "Psicobiología de las Drogodependencias" que dirige el Dr. José Miñarro, quien me dio la oportunidad de unirme al grupo, trabajar y aprender con ellos durante estos años. Quiero darte las gracias por preocuparte siempre por nosotros y porque nos haces mejorar cada día. Muchas gracias Pepe.

La Dra. Marta Rodríguez es otra persona a la que quiero agradecer de manera especial por lo que ha significado durante estos años. Siempre que la he necesitado, he tenido su ayuda. Es una persona agradable e inteligente, por lo que no es extraño que nos apelotonemos todos en su despacho, cada uno con su problema. De manera inexplicable es capaz de darnos solución a todos, haciendo que parezca fácil y sin perder la sonrisa. Quiero darte las gracias de forma especial por la ayuda con la docencia. Muchas gracias Marta.

Quiero agradecer de todo corazón a las personas con las que he convivido durante estos años en laboratorios, despachos y aulas; mis compañeros. Habéis sido mis maestros, de vosotros he recibido apoyo, comprensión y cariño. También nos lo hemos pasado bien. Bruno, Manu, Carmen, Concha, Isra, Ana, M^a Carmen, Toni, Roger, Ferrán, Pily, Conchín, Antonio, Federica, Alba, Sandra, Sonia, Ana y Pilar. Muchas gracias a todos.

Tuve la suerte de que otro grupo me acogiera durante unos meses en la Miller School of Medicine, University of Miami (Department of Psychiatry & Behavioral Sciences) y lo hicieron de forma que me hicieron sentir como en casa. Fueron unos meses intensos para mí por lo que supone estar en un ambiente diferente, las dificultades con el idioma, estar lejos de casa, etc., pero el Dr. Yossef Itzhak y su equipo me trataron estupendamente, por lo que guardo el mejor recuerdo de ellos. Yossef, Mara, Karen y Jonathan, muchas gracias.

Muchas personas me han ayudado con el western blot cuando he necesitado equipamiento, reactivos, orientación, ideas, etc. Dra. Mara Balda, Elias Blanco, Dra. Pilar Oviedo, Andrés Laguna, Dra. María Pascual, Dr. Antonio Marcilla. Y como siempre, la Dra. Marta Rodríguez y mi madre me han escuchado y me han ayudado a pensar soluciones para los problemas con los que me he ido encontrando. Muchas gracias a todos.

Tengo mucho que agradecer a mi familia, especialmente a mis padres y hermana. Ellos siempre están ahí. Por ellos hoy estoy aquí. Me han enseñado a esforzarme para conseguir lo quiero. Me han animado a hacer lo que me gusta. Han comprendido mis ausencias, ya que la tesis les ha robado tiempo a ellos. Además, mi madre ha sido “mi profe” siempre que lo he necesitado. Pero sobre todo, ellos me quieren y yo les quiero. Muchas gracias por todo.

Quiero agradecer también a mi “nueva familia”. Alberto y Cloty han visto casi tan de cerca como mis padres lo que ha supuesto esta tesis. También me han acompañado durante estos años. Hemos vivido muchas cosas juntos, especiales y cotidianas, ordinarias y extraordinarias, hasta hemos recorrido diferentes países juntos. Muchas gracias.

Por último, y de manera especial quiero agradecer a mi marido, Alberto, por haberme acompañado durante estos años. Nadie entiende mejor lo que ha supuesto esta tesis; el esfuerzo y el tiempo invertido. Él me ha animado siempre a continuar y ha confiado en mí más que nadie, probablemente más que yo misma. Alberto, eres la mejor persona que conozco. Me conoces totalmente, y a pesar de todo, decides compartir la vida conmigo. Gracias por todo. Te quiero.

La realización de la presente Tesis Doctoral ha sido posible gracias a las siguientes Becas y Ayudas:

- Ministerio de Ciencia e Innovación. Programa Nacional de formación de Profesorado Universitario (AP2006-04048).
- Ministerio de Ciencia e Innovación. Dirección General de Investigación (PSI2008-00181/PSIC), Instituto de Salud “Carlos III” (FIS), RETICS, Red de Trastornos Adictivos (RD06/001/0016).
- Generalitat Valenciana, Conselleria de Educación (PROMETEO/2009/072).

RESUMEN

La adolescencia constituye un periodo de especial vulnerabilidad al consumo de drogas, siendo los adolescentes los principales consumidores de 3,4-metilendioximetanfetamina (MDMA), un derivado anfetamínico con potencial adictivo. El objetivo del presente trabajo es evaluar el papel de los sistemas dopaminérgico y serotoninérgico en las propiedades reforzantes de la MDMA y en la vulnerabilidad a la recaída en su consumo. En concreto, hemos estudiado la implicación de estos sistemas de neurotransmisión en la adquisición, expresión y reinstauración del condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) inducido por MDMA en ratones adolescentes. Para ello utilizamos diferentes agonistas y antagonistas de estos sistemas de neurotransmisión en las fases anteriormente mencionadas del CPL. Además, estudiamos los efectos de la MDMA y de los demás tratamientos farmacológicos empleados en las concentraciones de DA, 5-HT y sus metabolitos en tejido cerebral, así como los cambios en los transportadores de dopamina y serotonina, en las diferentes fases del CPL. Pretendemos confirmar la capacidad adictiva de la MDMA y estudiar si los fármacos que afectan a los sistemas dopaminérgico y serotoninérgico facilitan o perjudican el CPL inducido por MDMA así como su efecto sobre la reinstauración. En general, los resultados obtenidos indican que los mecanismos neurobiológicos que controlan la adquisición, la expresión y la reinstauración del CPL inducido por MDMA difieren entre sí. El sistema serotoninérgico está implicado en la adquisición, la expresión y la reinstauración del CPL inducido por MDMA. Por su parte, el sistema dopaminérgico está implicado en la adquisición y la expresión del CPL inducido por MDMA, pero no parece críticamente implicado en la reinstauración del CPL. Asimismo, los diferentes subtipos de receptores dopaminérgicos y serotoninérgicos intervienen de forma diferencial en la adquisición, expresión y, en su caso, reinstauración del CPL inducido por MDMA en ratones adolescentes. Estos hallazgos contribuyen a la comprensión de las bases neurobiológicas de los efectos reforzantes del MDMA lo que puede ayudar a diseñar racionalmente estrategias farmacológicas que pueden servir de ayuda en el tratamiento de los pacientes que tienen dificultad para controlar su consumo, ya que actualmente no existen opciones farmacológicas eficaces para el tratamiento de la dependencia al éxtasis.

Palabras clave: MDMA, ratones, adolescencia, serotonina, dopamina, DOPAC, HVA, 5-HIAA, DAT, SERT, adquisición, expresión, reinstauración, CPL, recompensa.

ABSTRACT

Adolescence represents a developmental period characterized by high vulnerability to drug consumption. Adolescents are the main consumers of 3,4-methylene-dioxy-methamphetamine (MDMA), an amphetamine derivate with addictive potential. The aim of the present study was to evaluate the role of serotonergic and dopaminergic systems in the rewarding and reinstating properties of MDMA, specifically the implication of these neurotransmitter systems in the acquisition, expression and reinstatement of MDMA-induced Conditioned Place Preference (CPP) in adolescent mice. For this purpose we evaluated different agonists and antagonists of these neurotransmitter systems in the abovementioned phases of CPP. In addition, we studied the effects of MDMA and the rest of pharmacological treatments on DA and 5-HT and their metabolite concentrations in cerebral tissue, as well as changes in dopamine transporter (DAT) or serotonin transporter (SERT) concentrations in the striatum during different phases of an MDMA-induced CPP. We set out to confirm the addictive power of MDMA, to evaluate whether serotonergic and dopaminergic drugs facilitate or impair an MDMA-induced CPP process and to assess their relationship with reinstatement. In general, our results suggest that the neurobiological mechanisms of acquisition, expression and reinstatement differ. Additionally, different serotonergic and dopaminergic receptor subtypes are involved in the acquisition, expression and reinstatement of an MDMA-induced CPP in adolescent mice. The serotonergic system is implicated in the acquisition, expression and reinstatement of an MDMA-induced CPP. On the other hand, the dopaminergic system is implicated in the acquisition and expression of MDMA-induced CPP, but does not seem to be critical to MDMA-induced reinstatement of a previously extinguished preference. These findings improve our understanding of the neurobiological mechanisms of the rewarding properties of MDMA, and should help to design rational pharmacological strategies for the treatment of patients who have difficulty controlling their consumption.

Keywords: MDMA, mice, adolescence, serotonin, dopamine, DOPAC, HVA, 5-HIAA, DAT, SERT, acquisition, expression, reinstatement, CPP, reward.

ÍNDICE

1. Introducción.	17
2. Contextualización.	23
2.1. Historia de la MDMA.	24
2.2. Epidemiología de la MDMA.	26
2.3. El consumo de drogas en la adolescencia.	29
3. Farmacología de la MDMA.	34
3.1. Mecanismo de acción.	35
3.2. Farmacocinética.	42
3.3. Efectos a corto plazo de la MDMA.	46
3.3.1. Efectos a corto plazo en animales de laboratorio.	46
3.3.1.1. Efectos fisiológicos.	46
3.3.1.2. Efectos conductuales.	53
3.3.2. Efectos a corto plazo en humanos.	65
3.3.2.1. Efectos psicológicos.	65
3.3.2.2. Efectos fisiológicos.	69
3.4. Efectos a largo plazo de la MDMA.	73
3.4.1. Efectos a largo plazo en animales de laboratorio.	73
3.4.1.1. Efecto neurotóxico.	73
3.4.1.2. Otros efectos fisiológicos.	81
3.4.1.3. Efectos conductuales.	82
3.4.2. Efectos a largo plazo en humanos.	87
3.4.2.1. Psicopatología asociada al consumo de MDMA.	88
3.4.2.2. Otras consecuencias psicológicas asociadas al consumo de MDMA.	91
3.4.2.3. Consecuencias neuropsicológicas asociadas al consumo de MDMA.	92
3.4.2.4. Neurotoxicidad.	94
4. Antecedentes: efecto reforzante de la MDMA.	98
4.1. Efecto reforzante de la MDMA en animales.	99
4.2. Sistemas de neurotransmisión implicados en el efecto reforzante de la MDMA.	100
4.3. Efectos de la MDMA sobre los efectos reforzantes de otras drogas.	102
4.4. Modelos de adicción.	103
4.5. Efecto reforzante de la MDMA en humanos.	105
5. Metodología.	108
5.1. Condicionamiento de la Preferencia de Lugar.	109
5.1.1. Pre-Condicionamiento.	110
5.1.2. Condicionamiento.	112
5.1.3. Post-Condicionamiento.	114

5.1.4. Condicionamiento de la Preferencia de Lugar y autoadministración.	116
5.1.5. Ventajas.	117
5.1.6. Limitaciones.	119
5.1.7. Aplicaciones.	121
5.2. Reinstauración de la búsqueda de la droga.	123
5.2.1. Reinstauración de la autoadministración.	124
5.2.2. Reinstauración de la preferencia de lugar condicionada.	125
5.2.3. Diferencias entre ambos modelos de reinstauración.	126
5.2.4. Mecanismos implicados en la reinstauración de la búsqueda de drogas.	128
5.2.5. Relevancia de los hallazgos para la recaída en humanos.	136
6. Justificación.	138
7. Hipótesis y objetivos.	142
7.1. Hipótesis.	143
7.2. Objetivo general.	144
7.3. Objetivos específicos.	144
8. Estudio 1: Efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la adquisición, expresión y reinstauración del CPL inducido por MDMA.	147
8.1. Introducción.	148
8.2. Efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.	151
8.2.1. Materiales y métodos.	151
8.2.1.1. Sujetos.	151
8.2.1.2. Aparatos.	151
8.2.1.3. Tratamiento farmacológico.	152
8.2.1.4. Procedimiento del Condicionamiento de Preferencia de Lugar.	152
8.2.1.4.1. Adquisición.	152
8.2.1.4.2. Extinción.	154
8.2.1.4.3. Reinstauración.	154
8.2.1.5. Diseño experimental.	154
8.2.1.6. Determinaciones neuroquímicas.	155
8.2.1.6.1. Análisis de monoaminas cerebrales.	155
8.2.1.6.2. Determinación del DAT y el SERT.	156
8.2.1.7. Análisis estadístico.	157
8.2.2. Resultados.	159
8.2.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.	159
8.2.2.2. Determinaciones neuroquímicas.	164
8.2.2.2.1. Análisis de monoaminas cerebrales.	164
8.2.2.2.2. Determinación del DAT y el SERT.	165
8.3. Efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la expresión del CPL inducido por MDMA.	167
8.3.1. Materiales y métodos.	167
8.3.1.1. Sujetos.	167

8.3.1.2. Aparatos y procedimiento.	167
8.3.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.	167
8.3.1.4. Análisis estadístico.	168
8.3.2. Resultados.	169
8.3.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.	169
8.3.2.2. Determinaciones neuroquímicas.	171
8.3.2.2.1. Análisis de monoaminas cerebrales.	171
8.3.2.2.2. Determinación del DAT y el SERT.	172
8.4. Efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la reinstauración del CPL inducido por MDMA.	174
8.4.1. Materiales y métodos.	174
8.4.1.1. Sujetos.	174
8.4.1.2. Aparatos y procedimiento.	174
8.4.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.	174
8.4.1.4. Análisis estadístico.	175
8.4.2. Resultados.	176
8.4.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.	176
8.4.2.2. Determinaciones neuroquímicas.	180
8.4.2.2.1. Análisis de monoaminas cerebrales.	180
8.4.2.2.2. Determinación del DAT y el SERT.	181
8.5. Discusión.	182
9. Estudio 2: Efectos de la inhibición de la recaptación de serotonina sobre la adquisición y la reinstauración del CPL inducido por MDMA	192
9.1. Introducción.	193
9.2. Efectos de la fluoxetina sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.	198
9.2.1. Materiales y métodos.	198
9.2.1.1. Sujetos.	198
9.2.1.2. Aparatos y procedimiento.	198
9.2.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.	198
9.2.1.4. Análisis estadístico.	199
9.2.2. Resultados.	200
9.2.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.	200
9.2.2.2. Análisis de monoaminas cerebrales.	202
9.3. Efectos de un pretratamiento con fluoxetina sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.	203
9.3.1. Materiales y métodos.	203
9.3.1.1. Sujetos.	203
9.3.1.2. Aparatos y procedimiento.	203
9.3.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.	223
9.3.1.4. Análisis estadístico.	204
9.3.2. Resultados.	205
9.3.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.	205
9.3.2.2. Análisis de monoaminas cerebrales.	206
9.4. Efectos de la fluoxetina sobre la reinstauración del CPL inducido por MDMA.	207
9.4.1. Materiales y métodos.	207

9.4.1.1. Sujetos.	207
9.4.1.2. Aparatos y procedimiento.	207
9.4.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.	207
9.4.1.4. Análisis estadístico.	208
9.4.2. Resultados.	209
9.4.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.	209
9.4.2.2. Análisis de monoaminas cerebrales.	210
9.5. Discusión.	211
10. Estudio 3: Efectos del bloqueo del sistema dopaminérgico sobre la adquisición, la expresión y la reinstauración del CPL inducido por MDMA.	217
10.1. Introducción.	218
10.2. Efectos del bloqueo del sistema dopaminérgico sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.	220
10.2.1. Materiales y métodos.	220
10.2.1.1. Sujetos.	220
10.2.1.2. Aparatos y procedimiento.	221
10.2.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.	221
10.2.1.4. Análisis estadístico.	222
10.2.2. Resultados.	223
10.2.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.	223
10.2.2.2. Análisis de monoaminas cerebrales.	226
10.2.2.3. Determinación del DAT y el SERT.	228
10.3. Efectos del bloqueo del sistema dopaminérgico sobre la expresión del CPL inducido por MDMA.	230
10.3.1. Materiales y métodos.	230
10.3.1.1. Sujetos.	230
10.3.1.2. Aparatos y procedimiento.	230
10.3.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.	230
10.3.1.4. Análisis estadístico.	231
10.3.2. Resultados.	232
10.3.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.	232
10.3.2.2. Determinaciones neuroquímicas.	234
10.3.2.2.1. Análisis de monoaminas cerebrales.	234
10.3.2.2.2. Determinación del DAT y el SERT.	235
10.4. Efectos del bloqueo del sistema dopaminérgico sobre la reinstauración del CPL inducido por MDMA.	237
10.4.1. Materiales y métodos.	237
10.4.1.1. Sujetos.	237
10.4.1.2. Aparatos y procedimiento.	237
10.4.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.	237
10.4.1.4. Análisis estadístico.	238
10.4.2. Resultados.	239
10.5. Discusión.	243
11. Estudio 4: Efectos de la inhibición de la recaptación de dopamina sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.	250
11.1. Introducción.	251

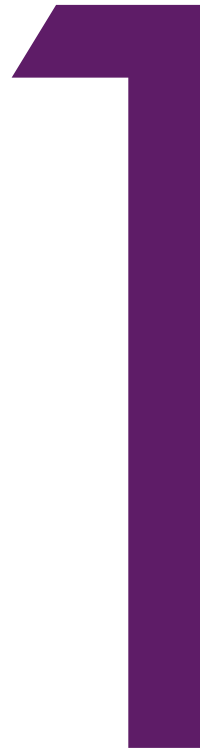
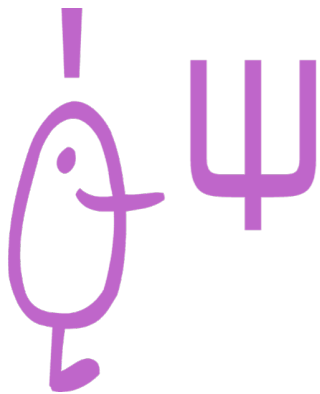
11.2. Efectos de la cocaína sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.	254
11.2.1. Materiales y métodos.	254
11.2.1.1. Sujetos.	254
11.2.1.2. Aparatos y procedimiento.	254
11.2.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.	254
11.2.1.4. Análisis estadístico.	255
11.2.2. Resultados.	256
11.2.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.	256
11.2.2.2. Análisis de monoaminas cerebrales.	257
11.3. Efectos de un pretratamiento con cocaína sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.	258
11.3.1. Materiales y métodos.	258
11.3.1.1. Sujetos.	258
11.3.1.2. Aparatos y procedimiento.	258
11.3.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.	258
11.3.1.4. Análisis estadístico.	259
11.3.2. Resultados.	260
11.3.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.	260
11.3.2.2. Análisis de monoaminas cerebrales.	262
11.4. Discusión.	263
12. Discusión general.	268
13. Conclusiones.	276
14. Bibliografía.	280

GLOSARIO DE ABREVIATURAS.

2,3-DHBA	ácido 2,3-dihidroxibenzoico
5-HIAA	Ácido 5-Hidroxiindolacético
5-HT	Serotonina.
5-HTP	5-Hidroxitriptófano
5,7-DHT	5,7-dihidroxitriptamina
6-OHDA	6-Hidroxidopamina.
AA	Autoadministración.
AEIC	Autoestimulación eléctrica intracraneal.
ACh	Acetilcolina.
ACTH	Hormona adrenocorticotropa
ATV	Área Tegmental Ventral.
BNST	Núcleo del lecho de la estría terminal.
Ca ²⁺	Calcio.
COMT	Catecol-O-metiltransferasa.
CPF	Corteza prefrontal.
CPL	Condicionamiento de la preferencia de lugar.
CREB	Proteína de unión al elemento de respuesta al AMP cíclico.
CYP2D6	Citocromo P450 2D6
DA	Dopamina.
DAT	Transportador de dopamina.
DEA	Drug Enforcement Administration.
DOPAC	Ácido dihidroxifenilacético.
EC	Estímulo condicionado.
EI	Estímulo incondicionado.
ESTUDES	Encuesta Estatal sobre Uso de Drogas en Enseñanzas Secundarias.
GFAP	Proteína ácida fibrilar glial.
HHA	3,4-dihidroxianfetamina.
HHMA	3,4-dihidroximetanfetamina.
HMA	4-hidroxi-3-metoxianfetamina.
HMMA	4-hidroxi-3-metoximetanfetamina.
HPLC	Cromatografía líquida de alta precisión.
HVA	Ácido homovanílico.
ISRS	Inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina.

KO	Knockout.
LEC	Laberinto elevado en cruz.
MAO	Monoaminoxidasa.
mCPP	Metaclorofenilpiperazina.
MDA	3,4-metilendioxiánfetamina.
MDEA	Metilendioxiétilánfetamina.
NA	Noradrenalina.
N. Acc.	Núcleo Accumbens.
PND	Días post-natales (<i>postnatal day</i>).
Post-C	Post Condicionamiento.
Pre-C	Pre Condicionamiento.
PKC	Proteína quinasa C
Reinst.	Reinstauración.
SERT	Transportador de serotonina.
SN	Sistema nervioso.
THC	Delta-9-tetrahidrocannabinol.
TPH	Triptófano hidroxilasa.
VMAT	Transportador vesicular de monoaminas.
WT	Wild Type.

Introducción



La adolescencia constituye un periodo en el que se dan una serie de circunstancias que predisponen al consumo de drogas. El adolescente está experimentando cambios a muchos niveles, está abierto a la experimentación, a la búsqueda de sensaciones y a la asunción de riesgos, es más sensible a la presión grupal, quiere divertirse, rebelarse, probarlo todo... estas características son parte de la adolescencia misma y son la consecuencia de una serie de cambios que ocurren a nivel biológico. Junto a los cambios corporales observables que hacen que en poco tiempo se pase del cuerpo de niño al de adulto ocurren otros que no podemos observar a simple vista. El Sistema Nervioso del adolescente no ha terminado de madurar y tiene unas características diferentes de las del adulto que le facilitan alejarse del núcleo familiar y aprender lo necesario para convertirse en una persona independiente. Sin embargo, esta predisposición especial para aprender, que ocurre a nivel biológico, puede suponer en el caso de las drogas una mayor vulnerabilidad a las complicaciones derivadas de su consumo.

La 3,4-metilendioximetanfetamina (MDMA o éxtasis) es una popular droga de síntesis derivada de las anfetaminas, que se consume de manera especial entre los adolescentes y adultos jóvenes principalmente en el contexto del ocio nocturno de fin de semana. Aunque no se trate de una droga con un potencial de abuso tan elevado como el de otros compuestos como puedan ser la heroína, la nicotina o la cocaína, lo cierto es que se producen casos de consumo abusivo y en algunos casos los consumidores llegan a cumplir los criterios de dependencia. Como se puede comprender, el estudio de las bases biológicas de los mecanismos relacionados con las adicciones conlleva una serie de dificultades para su estudio en humanos, y de manera especial si nuestro interés se centra en la adolescencia. Así, en la presente tesis doctoral, empleamos el modelo del ratón adolescente, lo que nos permite una serie de ventajas desde el punto de vista del control experimental de las variables implicadas, aunque lógicamente conlleva una menor validez ecológica que los estudios en humanos adolescentes, dificultando la extrapolación de los datos obtenidos. Las aportaciones que se realizan desde planteamientos más básicos como el que aquí se ofrece deben servir para complementar los datos obtenidos con sujetos consumidores.

En nuestro laboratorio hemos realizado diferentes trabajos relacionados con los efectos reforzantes de la MDMA en ratones adolescentes. Hemos observado que la MDMA produce efectos reforzantes a largo plazo en el paradigma de CPL así como la reinstauración de la preferencia después de su extinción, lo que sugiere la susceptibilidad de esta droga para inducir adicción (Daza-Losada y cols., 2007, 2009a; 2011; Ribeiro Do Couto y cols., 2011). Así, tras extinguir la preferencia condicionada, la reinstauración del CPL inducido por MDMA se puede conseguir con dosis de MDMA cuatro veces menores a la utilizada en el condicionamiento (Daza-Losada y cols., 2007). Además, hemos comprobado que el consumo de MDMA puede incrementar la vulnerabilidad al abuso de otras sustancias, ya que ratones expuestos a administraciones repetidas de MDMA durante la adolescencia, presentan un incremento de los efectos reforzantes de la morfina cuando son adultos, de forma que reinstauran la preferencia con dosis mucho más bajas que aquellos no tratados (Daza-Losada y col., 2008a). Adicionalmente, estos ratones muestran en el periodo adulto alteraciones en la ansiedad y en sus conductas sociales, un descenso en los niveles estriatales de dopamina (DA) y una mayor sensibilidad a los efectos reforzantes de la MDMA, resultando reforzantes dosis que son inefectivas en animales control (Daza-Losada y col., 2008b, 2009a; Ribeiro Do Couto y cols., 2011b; Rodríguez-Arias y cols., 2011). Los efectos reforzantes de la MDMA se prolongan mucho más en el tiempo en ratones expuestos a la MDMA durante la adolescencia. Estos animales requieren mucho más tiempo que aquellos sin experiencia con la droga para extinguir la preferencia de lugar inducida por MDMA. Igualmente el tiempo que requieren para extinguir la preferencia tras la reinstauración es mucho más prolongado (Daza-Losada y cols., 2009a; Ribeiro Do Couto y cols., 2011). De forma similar, la duración de la preferencia condicionada por la MDMA se prolonga en ratones expuestos al alcohol durante la adolescencia (Ribeiro Do Couto y cols., 2011).

En diversos trabajos hemos estudiado la implicación del sistema endocannabinoide en los efectos reforzantes de la MDMA. La preexposición a cannabinoides durante la adolescencia incrementa los efectos reforzantes de la MDMA y favorece la reinstauración de la preferencia (Rodríguez-Arias y cols., 2010). Además, una dosis baja del agonista cannabinoide WIN 55212-2 incrementa el CPL inducido por una

dosis baja de MDMA; sin embargo, una dosis más alta disminuye el efecto reforzante de dosis mayores de MDMA. El antagonista cannabinoide SR 141716A también incrementa los efectos reforzantes de una dosis baja de MDMA (Manzanedo y cols., 2010). El agonista cannabinoide anteriormente citado potencia los efectos reinstauradores de una dosis subumbral de MDMA, y el antagonista cannabinoide, SR 141716A, sólo o en combinación con una dosis "priming" de MDMA reinstaura la preferencia condicionada por la MDMA (Daza-Losada y cols., 2011). En este contexto y como continuación de estos trabajos, el objetivo de la presente tesis es evaluar el papel de los sistemas dopaminérgico y serotoninérgico en las propiedades reforzantes de la MDMA y en la vulnerabilidad a la recaída tras el consumo de MDMA. En concreto, hemos estudiado la implicación de estos sistemas de neurotransmisión en la adquisición, expresión y reinstauración del CPL inducido por MDMA en ratones adolescentes. Para ello utilizamos diferentes agonistas y antagonistas de estos sistemas de neurotransmisión en las fases anteriormente mencionadas del CPL. Además, estudiamos la posible neurotoxicidad provocada por la MDMA, medida por las concentraciones de DA y serotonina (5-HT) en tejido cerebral así como los cambios en los transportadores de dopamina (DAT) y serotonina (SERT) en las diferentes fases del CPL. Pretendemos confirmar la capacidad adictiva de la MDMA y estudiar si los fármacos que afectan a estos sistemas facilitan o perjudican el proceso del CPL inducido por MDMA así como su relación con la reinstauración. Así, pretendemos contribuir al conocimiento de las bases neurobiológicas subyacentes a los efectos comportamentales y neuroquímicos de esta droga para facilitar el diseño de estrategias de intervención a medio y largo plazo, que pudieran ser útiles en el tratamiento de la adicción a esta sustancia y contribuir al avance en el conocimiento de la neurobiología de la adicción.

Comenzamos esta memoria con un apartado en el que aportamos el marco necesario acerca de la sustancia, su historia, las características de su consumo y en el que dedicamos un espacio también a describir las características especiales de la adolescencia. El siguiente apartado lo dedicamos a describir la farmacología de la MDMA, en un intento de enmarcar nuestra aportación en su contexto científico; para ello describimos su mecanismo de acción, su farmacocinética así como sus

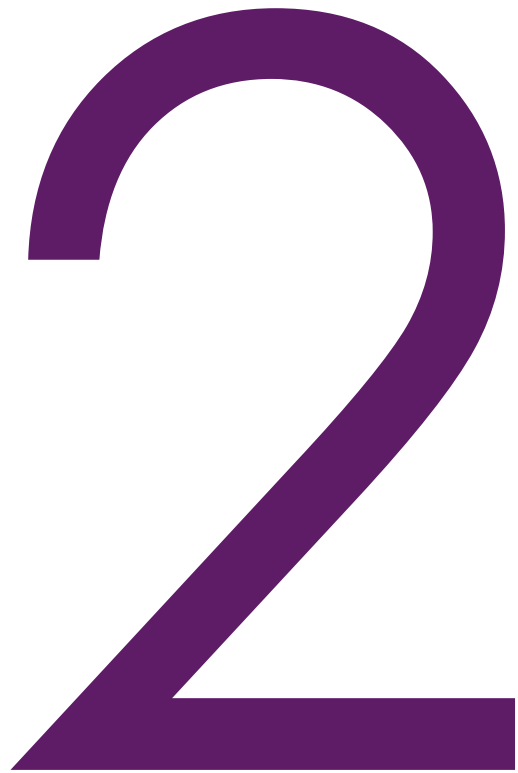
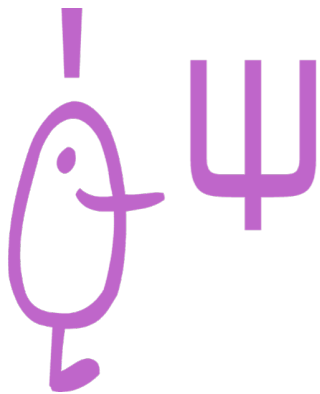
principales efectos fisiológicos y conductuales a corto y largo plazo. En el apartado dedicado a los antecedentes recogemos las aportaciones previas más directamente relacionadas con el presente trabajo, ya que se refieren a los trabajos sobre el efecto reforzante de la MDMA y los modelos de adicción. Posteriormente en el apartado dedicado a la metodología se justifican las principales técnicas con las que nos hemos acercado al objeto de estudio; el CPL y la reinstauración de la preferencia condicionada después de su extinción.

Cuatro estudios componen el trabajo experimental de la presente Tesis. En el primero hemos estudiado las consecuencias del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la adquisición, la expresión y la reinstauración del CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA. En estos trabajos hemos administrado metergolina, MDL 72222 o risperidona en diferentes fases del CPL. Además, en todos los estudios grupos adicionales recibieron un tratamiento farmacológico de las mismas características al que recibieron los grupos que realizaban las pruebas conductuales y en los cuales habíamos observado un efecto del fármaco, para la realización de determinaciones neuroquímicas que nos ayudaran a comprender los resultados observados. En el segundo estudio hemos estudiado los efectos del bloqueo de la recaptación de 5-HT, empleando la fluoxetina, sobre la adquisición y la reinstauración del CPL inducido por dosis no efectivas de MDMA. En el tercer estudio hemos estudiado el papel del bloqueo del sistema dopaminérgico sobre la adquisición, la expresión y la reinstauración del CPL inducido por MDMA, administrando SCH 23390, raclopride, haloperidol o CGS 10746B en las diferentes fases. Por último, en el cuarto estudio, hemos estudiado el efecto de la inhibición de la recaptación de DA, mediante la administración de cocaína, sobre la adquisición del CPL inducido por una dosis no efectiva de MDMA.

En general, los resultados obtenidos indican que los mecanismos neurobiológicos que controlan la adquisición, la expresión y la reinstauración del CPL inducido por MDMA difieren entre sí. El sistema serotoninérgico está implicado en la adquisición, la expresión y la reinstauración del CPL inducido por MDMA. Por su parte, el sistema dopaminérgico está implicado en la adquisición y la expresión del CPL inducido por MDMA, pero no parece críticamente implicado en la reinstauración del CPL en ratones adolescentes. Asimismo, la activación de diferentes subtipos de receptores

serotoninérgicos y dopaminérgicos parece contribuir de manera diferencial a cada uno de los procesos del CPL. La adquisición del condicionamiento parece depender de la liberación de DA y de la activación de los receptores DA D₁ y D₂ así como de los receptores 5-HT₃. La expresión del CPL requiere la activación conjunta de los receptores D₁ y D₂, así como la activación conjunta de los receptores 5-HT₂ junto con los receptores D₂ o con los receptores 5-HT₁. Finalmente, la reinstauración del CPL es menos dependiente de estos sistemas de neurotransmisión ya que sólo parece claramente necesaria una ligera activación de los receptores 5-HT_{1/2} o 5-HT₃. En el futuro, pretendemos estudiar la implicación de otros sistemas de neurotransmisión, especialmente del sistema glutamatérgico o del sistema cerebral de estrés (receptores del factor de liberación de corticotrofina) en los efectos reforzantes de la MDMA, especialmente en la reinstauración del CPL inducido por MDMA tras la extinción de este condicionamiento y la exposición a la droga o a diferentes tipos de estrés.

Contextualización



2.1. Historia.

La MDMA es un derivado de las anfetaminas, relacionado estructuralmente con la mescalina y con las monoaminas, que a nivel popular ha recibido diferentes nombres como empathy, lovedrug, essence, Adam, clarity, XTC, xen, banana Split, M&M, aunque el que más aceptación ha tenido es el de éxtasis (López-Muñoz y cols, 2004). Este compuesto fue sintetizado y patentado en 1912 por la compañía Merck como precursor de otros compuestos activos (Freudenmann y cols., 2006). Su toxicología se examinó en 1953 en la Universidad de Michigan, en un programa de investigación clasificado patrocinado por el ejército americano, probablemente para estudiar su posible uso como arma química, aunque parece que la MDMA nunca fue empleada con ese propósito. Estas investigaciones, en las que se constató su toxicidad a dosis elevadas, se desclasificaron en 1969 y fueron publicadas en 1973 (Pentney, 2001).

En 1965, Alexander Shulgin propone otros mecanismos para sintetizar MDMA y comienza a investigar con este compuesto. Le facilita el acceso a esta sustancia al psicólogo Leo Zoff, quien se interesa por la posible utilidad de la misma en el contexto de la terapia psicológica, introduciéndola bajo el nombre de Adam, sobre todo en el Área de San Francisco. Debido a su efecto entactógeno, se pensó que era útil para incrementar la autoestima del paciente, así como para facilitar la apertura y comunicación en el contexto de la terapia para tratar la depresión, el sufrimiento psicológico y problemas de relación (Greer y Strassman, 1985; Grinspoon y Bakalar, 1986; Greer y Tolbert, 1998).

Sin embargo, no es hasta 1978 cuando Shulgin y Nichols publican el primer informe sobre los efectos psicoactivos de la MDMA, posiblemente preocupados por la posibilidad de que ocurriera algo similar a lo que ocurrió con el LSD, con el que una vez conocidos sus efectos psicoactivos pasó a ser muy consumida y posteriormente ilegalizada (Eisner, 1995). Sin embargo, dado que hasta mediados de los 80 apenas se conocen casos de toxicidad, la legislación norteamericana permitió el consumo de MDMA, de forma que a principios de los 80 más de mil psicoterapeutas privados usaba MDMA en EEUU (Pentney, 2001).

En 1977, Reino Unido ilegaliza la posesión y venta de la MDMA. A principios de los 80 su consumo se populariza, asociándose al movimiento New Age, grupo que producía la sustancia y la distribuía junto a folletos en los que se describían aspectos farmacológicos y se sugería el modo de administración (Escotado, 1998). Sin embargo, desde unos contextos bastante específicos, la droga se va extendiendo para convertirse en una droga muy popular, asociada al ocio y al baile en los clubes de música House en Chicago, Nueva York, San Francisco y Detroit, comercializándose como “éxtasis”, nombre escogido por los traficantes con fines comerciales (Pentney, 2001).

El consumo de MDMA en Europa era prácticamente desconocido hasta finales de los años ochenta. Este comienza en Europa a principios de los 80 en las discotecas de Ibiza y Valencia, y posteriormente, a mediados de los 80, los jóvenes ingleses que veraneaban en Ibiza importan a los locales de Londres y Manchester las fiestas con música House en las que se consume MDMA (Saiz y cols., 2003).

En 1984 el gobierno americano propone incluir a la MDMA en la Lista I de Sustancias controladas. Ante esta propuesta un grupo de médicos, psicoterapeutas y abogados solicitan una reunión con la oficina anti droga americana (DEA, por sus siglas en inglés) para discutir la inclusión de esta sustancia en otra lista que permitiera su empleo en contextos terapéuticos. Sin embargo, en 1985 la DEA incluye la MDMA en la Lista I, basándose fundamentalmente en un estudio (Ricaurte y cols., 1985) en el que se ponía de manifiesto que un compuesto análogo, la 3,4-metilendioxiánfetamina (MDA), resultaba neurotóxico en ratas (Pentney, 2001; Saunders, 1993). Posteriormente, en 1986 la OMS incluye igualmente la MDMA en la Lista I del Convenio sobre Psicotrópicos firmado en Viena en 1971, ilegalizándola a nivel mundial. En nuestro país se acata la decisión ese mismo año, de acuerdo a la Orden Ministerial del 6 de Junio, prohibiendo el uso, la fabricación, la importación, el tránsito y el comercio de la MDMA, así como de todos los preparados que la contengan (Saiz y cols., 2003). Sin embargo, en años recientes algunos autores continúan señalando su posible aplicación terapéutica, por lo que se ha estudiado su utilidad en el tratamiento de la ansiedad en enfermos terminales de cáncer y el estrés postraumático (Greer y Tolbert , 1998; Doblin, 2002; Check, 2004; Sessa, 2005; Mithoefer y cols., 2011).

En España, a principios de los 90 es cuando se extiende ampliamente el consumo de MDMA, se producen las primeras emergencias médicas, disminuye la edad de inicio en su consumo y se crea gran polémica en los medios de comunicación (Gamella y Alvarez, 1999).

2.2. Epidemiología de la MDMA.

Según el informe Mundial sobre las Drogas 2011, que elabora la Oficina contra la Droga y el Delito de las Naciones Unidas, la producción de estimulantes de tipo anfetamínico se ha extendido desde los años 90 y se prevé que el número de consumidores de estas sustancias superará a nivel mundial al de los consumidores de cocaína y opiáceos. A nivel mundial los estimulantes de tipo anfetamínico suponen el segundo grupo de drogas ilícitas en volumen de consumo, por detrás del consumo de cannabis. Particularmente, el uso de "éxtasis" se está incrementando en algunos países en desarrollo, especialmente en Asia, mientras que en Europa tiende a disminuir o mantenerse constante. Se estima que la cifra de consumidores de MDMA en el último año oscila entre 13.7 y 56.4 millones de personas de entre 15 y 64 años, lo que supone entre el 0.3 y el 1.3% de la población.

A nivel europeo, aunque el consumo de cocaína en cifras absolutas puede ser más elevado, según los datos del Informe anual 2011 del Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías, en muchos países, después del cannabis, el éxtasis o las anfetaminas suponen la segunda sustancia ilícita más habitualmente consumida. Aunque en algunos países se pueden observar incrementos en los últimos datos de consumo, los datos más recientes señalan la tendencia a la estabilización o incluso un descenso moderado en el consumo de éxtasis en Europa. Sin embargo, se piensa que en algunos de estos países, entre los que figura España, el consumo de cocaína puede estar sustituyendo al consumo de éxtasis y anfetaminas, ya que se ha observado un incremento en el consumo de cocaína coincidiendo con este descenso.

En los últimos años se ha producido un cambio en el contenido de los comprimidos, desde una situación en la que la mayoría de las pastillas analizadas contenían MDMA

o sustancias relacionadas como metilendioxietilamfetamina (MDEA) o MDA como única sustancia psicotrópica, a otra en la que se detectan contenidos más diversos (anfetaminas, piperacinas, mCPP, etc.) y una menor presencia de MDMA en las pastillas analizadas en 2009. El contenido de MDMA habitualmente oscila entre 3 y 108 mg, aunque se ha informado de pastillas que contenían más de 130 mg. Con respecto al precio, el éxtasis es ahora más barato de lo que lo fue en la década de los noventa, cuando se extendió su consumo. En la mayoría de los países europeos las pastillas se venden por precios que oscilan entre los 4 y los 9 euros, aunque en ocasiones se venden por menos de 1 euro.

El consumo de éxtasis se asocia con los locales de ocio nocturno y las discotecas, por lo que los indicadores de consumo son mayores en personas jóvenes y en ocasiones extremadamente elevados si se obtienen en estos contextos, pudiendo llegar al 85% para el consumo de éxtasis en algún momento de la vida. La mayoría de los 2.5 millones de europeos que consumieron éxtasis durante el último año pertenecen al grupo de edad de entre 15 y 34 años, en que la prevalencia de consumo en algún momento de la vida se sitúa entre el 2.1% y el 5.8% para la mayoría de países europeos, alcanzando el 12.7% en el caso de Reino Unido. Los varones han comunicado generalmente unos niveles de consumo muy superiores a los de las mujeres. Los consumidores de éxtasis suponen los pacientes más jóvenes que inician tratamiento por drogodependencia, aunque generalmente menos del 1% de los pacientes que inician tratamiento menciona el éxtasis como droga principal, indicando a menudo el consumo de otras sustancias, preferentemente alcohol y cocaína.

Algunos países realizan intervenciones en locales de ocio nocturno, principalmente materiales con información y estrategias de reducción de daños. Además, siete países, entre ellos España realizan estrategias dirigidas al entorno, por ejemplo relacionadas con los locales, los medios de transporte, vigilancia policial o intervenciones en crisis. Sin embargo, recientemente se ha señalado que estas estrategias de reducción de daños implantadas en entornos recreativos, rara vez se someten a evaluación, y su eficacia no está clara.

A nivel Nacional, según los datos de la Encuesta domiciliar sobre alcohol y drogas en España 1995-2009, promovida por la Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas, las drogas más extendidas entre la población española de entre 15 y 64 años son el alcohol y el tabaco, seguidas del cannabis e hipnosedantes. Según los últimos datos, 0.8% de la población ha consumido éxtasis en los últimos 12 meses, manteniéndose el consumo de esta sustancia en niveles bajos y estables. La edad media del primer consumo (20.8 años) es superior a la edad de inicio para otras sustancias como tabaco, alcohol, alucinógenos o anfetaminas, y se mantiene relativamente estable desde que se realiza la encuesta. En relación a las prevalencias por sexo, en todas las encuestas realizadas se encuentran indicadores de consumo más elevados en el caso de los hombres. Por segmentos de edad, en todas las encuestas se observan indicadores mucho mayores para el grupo de entre 15 y 34 años comparado con el grupo de entre 35 y 64. Estas diferencias pueden observarse para el consumo alguna vez en la vida (7.2% frente al 2.2%), consumo en el último año (2.4% frente a 0.4%) o en el último mes (0.8% frente a 0.2%), observándose las prevalencias más elevadas en los hombres de entre 15 y 34 años. Se trata de una droga de consumo muy esporádico, sin embargo es muy característico en estos consumidores el consumo de otras drogas, principalmente alcohol (98%), tabaco (85.8%), cannabis (88.7%) y cocaína (75.2%).

Según la Encuesta estatal sobre uso de drogas en estudiantes de enseñanzas secundarias (ESTUDES, 1994-2008), promovida por la Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas, un 2.7% de los estudiantes españoles de entre 14 y 18 años, han consumido éxtasis alguna vez en la vida, un 1.9% en el último año, y un 1.1% en el último mes, siendo la proporción de consumidores masculinos muy superior a la de consumidoras. Por ejemplo, en los últimos 30 días, el porcentaje de chicos que había consumido éxtasis era de un 1.5% frente al 0.6% de las chicas. De acuerdo con lo observado en otras encuestas, por lo general se trata de un consumo esporádico que aumenta con la edad, situándose el mayor aumento entre los 16 y los 17 años. La edad de inicio se sitúa en los 15.2 años, y no ha variado de forma significativa en los últimos años. En el año 2008 la prevalencia de consumo descendió suavemente, especialmente la prevalencia de consumo alguna vez en la

vida, tanto en chicos como en chicas. De forma similar a lo observado en la Encuesta domiciliaria, los consumidores de éxtasis declaran consumir otras drogas como el alcohol (98%), hachís (94.4%), tabaco (86.1%) o cocaína (71.4%).

2.3. El consumo de drogas en la adolescencia.

Como hemos visto, el consumo de MDMA se produce principalmente en adolescentes y adultos jóvenes. El término adolescencia se refiere al periodo que supone la transición entre la infancia y la edad adulta. En este periodo se producen los cambios fisiológicos y neuroendocrinos asociados a la madurez sexual (pubertad), pero también incluye cambios psicológicos y sociales que conducen a la independencia parental, por lo que sus límites temporales no están definidos con exactitud. En humanos habitualmente se asocia con el periodo comprendido entre los 9 y los 18 años, aunque algunos autores consideran incluso hasta los 25 años como adolescencia tardía (Spear, 2000a). Muchos de los aspectos psicobiológicos de la transición desde la infancia hasta el periodo adulto pueden identificarse en muchas especies de mamíferos, por lo que es posible estudiar algunos de estos aspectos en modelos animales. Estos aspectos incluyen cambios hormonales, la emergencia de patrones conductuales orientados sexualmente, preferencia y búsqueda de novedad, asunción de riesgos o elevados niveles de conducta afiliativa y de juego (Spear, 2000b; Laviola y cols, 2003)

En roedores existen igualmente diferentes posturas a la hora de definir los límites temporales de la adolescencia, aunque se suele considerar el periodo entre los 21 y 60 días de edad, desde el destete hasta el comienzo del periodo adulto (Laviola y cols., 2003; Smith, 2003), pudiendo dividirse este periodo en adolescencia temprana o juvenil (21 a 34 días), adolescencia media (34 a 46 días) y adolescencia tardía (46 a 59 días) (Laviola y cols., 2003). Durante este periodo se producen cambios cerebrales que se traducen en cambios a nivel psicológico, conductual, cognitivo y social. Factores ambientales, como las drogas, interaccionan con estas características psicológicas y neurobiológicas, para proteger o hacer más vulnerable al individuo. Estos procesos madurativos podrían verse afectados por la exposición a sustancias psicoactivas a una edad temprana, interfiriendo con un correcto desarrollo cognitivo y psicosocial del individuo (Laviola y cols., 1999).

Durante la adolescencia hay una vulnerabilidad especial al consumo de drogas por las características típicas de este periodo: impulsividad, búsqueda de novedad, asunción de riesgos, etc. La progresión en el consumo de drogas es más rápida durante la adolescencia y existe un mayor riesgo de desarrollar dependencia (Anthony y Petronis, 1995; Breslau y Peterson, 1996). Sin embargo también se han descrito factores de protección frente al uso/abuso de drogas en la adolescencia; aspectos del contexto como una relación materna afectiva o el apoyo por parte de la familia y de los compañeros, y aspectos individuales como la introversión o la autoaceptación (Newcomb, 1995).

Los cambios psicológicos en la adolescencia son especialmente importantes en relación con el consumo de drogas. Se ha descrito un aumento en el afecto negativo, estado de ánimo depresivo, disminuye la sensación de felicidad y se observa un cierto grado de anhedonia (Larson y cols., 2002). Estos cambios predisponen a los adolescentes a obtener nuevos reforzadores incrementando las conductas de búsqueda de novedad y asunción de riesgos, entre las que se encuentra el uso de drogas. La exploración del ambiente es un aspecto característico de los mamíferos; estamos preparados para prestar atención a los aspectos novedosos y a las variaciones del entorno (Renner y Seltzer, 1991). La información novedosa resulta reforzante, de hecho la exposición a un ambiente novedoso induce liberación de DA en el N. Acc. (Rebec y cols., 1997), y la lesión del sistema dopaminérgico bloquea la expresión de la preferencia por un ambiente novedoso (Pierce y cols., 1990).

La motivación para la búsqueda de novedad varía entre individuos y en un mismo individuo en diferentes momentos. Los adolescentes muestran una mayor motivación para la búsqueda de sensaciones novedosas y las personas con altos niveles de búsqueda de novedad se implican en mayor medida en actividades de riesgo, por lo que los adolescentes pueden tener una mayor predisposición al consumo de drogas (Wills y cols., 1994; Laviola y cols., 1999). Así, los adolescentes (animales y humanos) con alta preferencia por los estímulos novedosos, son más susceptibles al uso/abuso de drogas (Laviola y cols., 1999) y de forma similar, ratas adolescentes con elevados índices de exploración inducida por novedad y más impulsivas muestran una mayor

respuesta dopaminérgica tras la administración de cocaína (Stansfield y Kirstein, 2005).

Dos rasgos de personalidad relacionados con la búsqueda de novedad se han relacionado con el consumo de drogas. El rasgo de personalidad denominado búsqueda de sensaciones se caracteriza por la necesidad de experimentar diferentes sensaciones y emociones, así como el deseo de correr riesgos por el deseo de disfrutar de tales experiencias (Zuckerman, 1979). Por su parte la impulsividad incluye diferentes componentes como falta de premeditación, búsqueda de sensaciones, imprudencia, falta de perseverancia, urgencia y sensibilidad a la recompensa (Whiteside y Lynam, 2003, visto en Semple y cols., 2005). En roedores adolescentes ha podido observarse una preferencia por el refuerzo inmediato frente a un refuerzo mayor demorado, así como mayores tasas de respuestas durante un periodo en el que no se requería emisión de respuesta en una tarea instrumental (periodo de demora) (Adrinani, 2003). Elevados niveles de impulsividad podrían conducir al abuso de drogas y a la posterior escalada en el consumo. Igualmente, las drogas de abuso pueden incrementar la impulsividad, lo cual contribuye de forma adicional a la escalada del consumo. Además, la impulsividad se relaciona con otros factores de vulnerabilidad, como el sexo, el estatus hormonal (por ejemplo, presencia de estrógeno/progesterona), la reactividad a otros reforzadores y las experiencias tempranas (Perry y Carroll, 2008). Aunque en humanos tanto la búsqueda de novedad como la impulsividad se asocian con mayores niveles de uso/abuso y dependencia, en roedores la búsqueda de novedad se ha relacionado con el inicio en la autoadministración (AA) de cocaína pero no con la dependencia, mientras que la impulsividad sí que predijo patrones de consumo indicadores de dependencia, como el consumo compulsivo en presencia de consecuencias adversas (Belin y cols., 2008).

Todos estos cambios conductuales, cognitivos y emocionales son el reflejo de cambios neurobiológicos. Recientemente se han realizado diferentes revisiones sobre los cambios psicobiológicos que ocurren durante la adolescencia (Schramm-Sapyta y cols., 2009; Galván, 2010; Jain y Balhara, 2010; Vigil y cols., 2011; Sturman y Moghaddam, 2011). Así, las características del cerebro adolescente pueden predisponerles a actuar de esta forma. El sistema cerebral de recompensa

sufre cambios durante este periodo que podrían favorecer la progresión en el uso de las drogas. El volumen de la corteza prefrontal (CPF) disminuye tanto en roedores como en el ser humano, mientras que la sustancia blanca incrementa; aumentan los inputs dopaminérgicos, colinérgicos y serotoninérgicos, aunque se reduce el número de sinapsis excitatorias glutamatérgicas que llegan a la CPF (Crews y cols., 2007). Así, las regiones cerebrales que subyacen a procesos como atención, evaluación de la recompensa, inhibición de respuestas, y las conductas dirigidas a una meta, experimentan cambios estructurales y funcionales durante la adolescencia y comienzo de la vida adulta (Yurgelun-Todd, 2007). Por estos motivos, durante la adolescencia las drogas adictivas pueden resultar más reforzantes y menos aversivas.

En las investigaciones sobre los cambios en el sistema de recompensa durante la adolescencia se han planteado dos hipótesis. Una hipótesis apunta a que los adolescentes tienen un estriado menos sensible a la recompensa, por lo que tendrían que buscar estimulaciones más intensas para obtener niveles de recompensa similares a los experimentados por los adultos. La otra postura, por el contrario, sostiene que el sistema estriatal de recompensa es más responsivo, por lo que la conducta de los adolescentes está más orientada a la obtención recompensas (Galvan, 2010). Lo cierto es que durante la adolescencia el sistema dopaminérgico experimenta una reorganización. Aunque los niveles de DA basal en el estriado son menores en el caso de los adolescentes, estos son capaces de liberar más DA en respuesta a estímulos ambientales o farmacológicos (Stamford, 1989). Así, durante la adolescencia determinadas situaciones o eventos podrían resultar más recompensantes, produciendo una mayor liberación de DA estriatal (Laviola y cols., 2003).

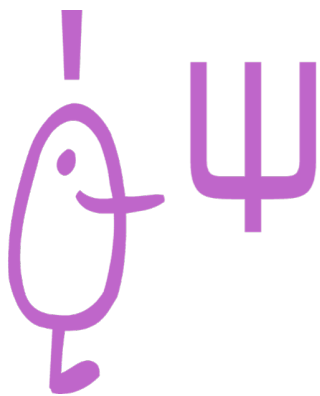
Asimismo, se producen cambios en los receptores dopaminérgicos en este periodo. La expresión del DAT, se incrementa en el N. Acc en ratas, desde el nacimiento hasta el inicio del periodo adulto (PND 7-60) (Tarazi y cols., 1998b). A nivel postsináptico, los receptores dopaminérgicos están sobreexpresados en el estriado y N. Acc. antes de la pubertad, sufriendo posteriormente una poda durante la adolescencia (Tarazi y cols, 1998a; Tarazi y Baldessarini, 2000). Los cambios en el sistema mesolímbico probablemente subyacen a algunas de las características

conductuales y psicológicas propias de la adolescencia, como el aburrimiento, la insatisfacción o el incremento en la curiosidad y en la búsqueda de estímulos reforzantes (Laviola y cols., 2003; Crews y cols., 2007).

El sistema serotoninérgico también experimenta una reorganización durante el desarrollo post-natal pudiendo afectar al estado de ánimo, la regulación del sueño y otras conductas complejas (Crews y cols., 2007). Tanto en humanos como en ratas, las neuronas serotoninérgicas se generan prenatalmente (Lauder, 1990). En el cerebro anterior de la rata, los niveles de conexiones sinápticas de las neuronas serotoninérgicas decaen significativamente durante la adolescencia temprana (Dinopoulos y cols., 1997). Junto con esta reorganización sináptica se producen cambios en la expresión de receptores serotoninérgicos. La mayor parte de los subtipos de receptores serotoninérgicos se expresan prenatalmente y posteriormente se produce una reorganización en la que se reduce la expresión de éstos (Morilak y Ciaranello, 1993; Dyck and Cynader, 1993). Por el contrario, la expresión del SERT se incrementa en el N. Acc de la rata desde los 7 días de edad hasta el periodo adulto, sin descender en la adolescencia (Tarazi y cols., 1998).

Los cambios madurativos en la adolescencia son evidentes en otras regiones cerebrales como áreas frontales, parietales, estriales, talámicas, hipocampo y estructuras del sistema límbico (Luna y Sweeney, 2001). Además, durante el desarrollo del cerebro adolescente los sistemas límbicos subcorticales se desarrollan antes que los sistemas de control, por lo que en el cerebro de los adolescentes puede haber un desequilibrio debido a una mayor sensibilidad a las claves motivacionales junto con un control cognitivo todavía inmaduro (Cassey y cols., 2011). Se piensa que factores ambientales, como la exposición a drogas en la adolescencia, pueden alterar estos procesos de maduración afectando a la nueva organización sináptica, obstaculizando así un desarrollo psicológico adecuado (Andersen, 2003; Crews y cols., 2007; Schramm-Sapyta y cols., 2009).

Farmacología de la MDMA



La MDMA es un derivado de la anfetamina relacionado estructuralmente con la mescalina, la anfetamina y las monoaminas. Nichols (1986) propuso el término “entactógeno” para describir sus efectos, neologismo con raíces griegas y latinas que significa “permitir un contacto interior”. En su forma pura, se trata de un polvo blanco de sabor amargo y su fabricación es relativamente sencilla (López-Muñoz y cols., 2004). Se presenta como mezcla racémica (ambos isómeros se encuentran en proporciones aproximadamente equivalentes) y se vende de forma casi exclusiva como pastillas de colores que habitualmente contienen logotipos. El contenido de MDMA es muy variable entre diferentes partidas e incluso entre diferentes pastillas con el mismo logo (Capela y cols., 2009). A veces, las pastillas que se venden como éxtasis contienen otras drogas mezcladas, como MDEA, MDA, 3,4-metilendioxi-fenilbutanamina (MDB), cafeína, LSD, cocaína, codeína, fenciclidina, estricnina, ketamina, efedrina o piperacinas como la *mCPP*, o no llegan a tener MDMA en su composición (López-Muñoz y cols., 2004; Parrott, 2004). El escaso contenido de MDMA en las pastillas de éxtasis puede deberse a la escasez de su precursor principal PMK (Informe anual 2011 del Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías).

3.1. Mecanismo de acción.

La MDMA afecta a las funciones del Sistema Nervioso (SN) central y periférico actuando principalmente en el sistema monoaminérgico como un agonista indirecto. Concretamente, la MDMA interactúa con los transportadores de monoaminas, produciendo liberación de 5-HT, DA y noradrenalina (NA) (Berger y cols., 1992; Crespi y cols, 1997; Rothman y cols, 2001; Han y Gu, 2006; Montgomery y cols., 2007). En comparación con la inhibición producida por la anfetamina y la metanfetamina, esta molécula tiene mayor potencia para inhibir al SERT, e inhibe en menor medida el DAT y el NET (Capela y cols., 2009). De acuerdo con los estudios *in vitro*, los estudios *in vivo* confirman que la MDMA incrementa la 5-HT y DA extracelular, siendo estos efectos de mayor magnitud en el caso de la 5-HT (Yamamoto y Spanos, 1988; Gudelsky y Nash, 1996; Koch y Galloway, 1997; Baumann y cols., 2005).

La liberación de 5-HT inducida por MDMA ocurre en numerosas regiones como el estriado, N. Acc., hipocampo y corteza (Gough y cols., 1991; Gudelsky y Nash, 1996; Mehan y cols., 2002; Kehr y cols., 2011). En estudios *in vitro*, se ha observado que la MDMA induce liberación de 5-HT por mecanismos parcialmente dependientes del calcio (Ca^{2+}) (Wichems y cols., 1995; Crespi y cols., 1997), actuando como un sustrato del SERT (Verrico y cols., 2007). De hecho, la liberación de 5-HT producida por la MDMA se bloquea administrando inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) (Hekmatpanah y Peroutka, 1990; Gudelsky y Nash, 1996; Mehan y cols., 2002). Parece que la MDMA utiliza el transportador para entrar en el terminal neuronal, aunque en altas concentraciones también puede entrar por difusión. Una vez dentro, la MDMA provoca la liberación de 5-HT desde el almacén vesicular, posiblemente introduciéndose en las vesículas mediante el transportador vesicular de monoaminas (VMAT), y agota estos almacenes por un mecanismo de intercambio mediado por el transportador (Berger y cols., 1992; Wichems y cols., 1995; Gudelsky y Nash, 1996; Crespi y cols., 1997; Baumann y cols., 2005; Partilla y cols., 2006; Capela y cols., 2009). Debido al incremento en la 5-HT citoplasmática, la MDMA promueve una rápida liberación de 5-HT intracelular a la sinapsis invirtiendo la actividad del SERT. Esta liberación de 5-HT mediada por el SERT parece responsable de los principales efectos subjetivos de la MDMA. Así, en un estudio doble ciego controlado con placebo se ha observado como un pretratamiento con citalopram redujo marcadamente la mayoría de los efectos subjetivos de la MDMA, como el estado de ánimo positivo, el incremento en extraversión y la autoconfianza, así como los efectos cardiovasculares y adversos en sujetos voluntarios (Liechti y Vollenweider, 2001).

Otros mecanismos contribuyen al incremento en la concentración de 5-HT en la sinapsis. La MDMA también puede incrementar los niveles extracelulares de monoaminas interfiriendo en su metabolismo, inhibiendo parcialmente la actividad de la monoamino oxidasa cerebral (MAO) (Leonardi y Azmitia, 1994; Hewton y cols., 2007). La 5-HT recién sintetizada también está implicada en la liberación de 5-HT inducida por MDMA ya que la inhibición de su síntesis mediante p-chlorfenilalanina (PCPA) la bloquea (Brodkin y cols., 1993). Además, la administración de su precursor 5-hidroxitriptófano (5-HTP) produce un incremento de la concentración extracelular

de 5-HT (Gartside y cols., 1992). De forma similar, la administración de carbidopa y 5-HTP junto con MDMA produce un incremento sinérgico en la concentración extracelular de 5-HT tras la administración de MDMA mucho mayor que la producida por cada uno de estos compuestos administrados de forma independiente (Gudelsky y Nash, 1996).

El efecto de la MDMA sobre la 5-HT produce el agotamiento de sus reservas vesiculares. De hecho, una dosis aguda de MDMA puede producir la liberación de hasta el 80% de la 5-HT almacenada a nivel central durante las horas posteriores a su consumo (Huether y cols., 1997). Pero además se produce una inhibición de la enzima limitante de la síntesis de 5-HT, la triptófano hidroxilasa, por lo que el descenso posterior en los niveles de 5-HT puede ser muy importante (Stone y cols., 1986; Schmidt y Taylor, 1987; O'Shea y cols., 2006). Sin embargo la MDMA parece tener poco efecto en la actividad de la triptófano hidroxilasa en el cerebro del ratón, a no ser que se administren dosis múltiples (Stone y cols., 1987). De hecho O'Shea y cols. (2001) solo observaron un pequeño descenso en los niveles de 5-HT y ácido 5-Hidroxiindolacético (5-HIAA) en la corteza y el hipocampo de ratones, así como un pequeño efecto en el estriado. De forma similar, Stone y cols. (1987) habían informado previamente de una depleción ligera y reversible de ambos marcadores en el estriado. Estos datos contrastan con los marcados efectos agudos de la MDMA en las concentraciones de 5-HT y 5-HIAA en el cerebro de la rata, donde los descensos más severos ocurren en el estriado, hipocampo y CPF (Sabol y cols., 1996), pudiendo durar hasta 12 meses (Fischer y cols., 1995; Lew y cols., 1996; Sabol y cols., 1996).

En relación a los efectos de la MDMA en el sistema dopaminérgico, en estudios in vitro se ha observado que la MDMA promueve la liberación de DA por mecanismos dependientes de Ca^{2+} y del DAT (Crespi y cols., 1997). Así, se ha observado que la tetrodotoxina reduce la liberación de DA inducida por MDMA, pero no la inducida por amfetamina (Yamamoto y cols., 1995). Estudios con microdialisis in vivo han confirmado este incremento en las concentraciones extracelulares de DA en el estriado de rata, donde también se libera 5-HT, aunque en menor cantidad (Hiramatsu y Cho, 1990; Gough y cols., 1991; Esteban y cols., 2001). Más

recientemente también se ha observado en ratones que la concentración extracelular de DA se incrementa en el estriado tras la administración de MDMA (Colado y cols., 2001; Camarero y cols., 2002) y el contenido estriatal de DA y ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) se reduce 3 horas después de 3 administraciones de 30 mg/kg de MDMA (O'Shea y cols., 2001). La liberación de DA inducida por la MDMA podría explicar sus efectos reforzantes (White y cols., 1996) y en cierta medida sus efectos subjetivos, ya que un pretratamiento con haloperidol redujo el estado de ánimo positivo, sin afectar a otros efectos subjetivos, cardiovasculares o adversos producidos por MDMA (Liechti y Vollenweider, 2001).

La MDMA funciona como un sustrato para el DAT (Verrico y cols., 2007), aunque su papel en la liberación de DA inducida por MDMA no se comprende totalmente. Se ha informado tanto de un bloqueo o atenuación en la liberación de DA inducida por MDMA, mediante la administración de inhibidores de la recaptación de DA (Nash y Brodking, 1991; Koch y Galloway, 1997; Shankaran y cols., 1999b) como de una falta de efecto (Camarero y cols., 2002; Mechan y cols., 2002) o incluso de una potenciación del mismo (O'Shea y cols., 2001). Esta disparidad en los resultados podría explicarse en función de diferencias metodológicas relacionadas con la vía de administración, la temperatura ambiente o las cepas empleadas (Colado y cols., 2004). Además, la MDMA es un sustrato para el VMAT. En estudios *in vitro* se ha observado que la MDMA disminuye el transporte vesicular de DA, por lo que ésta se acumula en el citoplasma favoreciendo así su liberación (Hansen y cols., 2002; Partilla y cols., 2006).

Las interacciones entre 5-HT y DA son complejas y dependen de la región cerebral y del estado de la actividad dopaminérgica. Con respecto a los efectos producidos por la MDMA en el estriado, los datos apuntan a un papel estimulador de la 5-HT en la actividad dopaminérgica de la vía nigroestriatal. Así, la liberación de DA en el estriado como consecuencia de la administración de MDMA se reduce de forma significativa en presencia de fluoxetina, y la supresión de la liberación de 5-HT inducida por MDMA reduce la liberación de DA inducida por esta droga (Gudelsky y Nash, 1996; Koch y Galloway, 1997; Shankaran y cols., 1999a), mientras que su potenciación o la administración de agonistas serotoninérgicos la incrementa (Gudelsky y cols., 1994; Gudelsky y Nash, 1996). Sin embargo, el aumento de 5-HT en el estriado no

afecta a los niveles basales de DA, sino que sólo potencia la transmisión dopaminérgica en la vía nigro-estriatal cuando esta está activada (Lucas y cols., 2000a). Esta estimulación de la liberación de DA depende de la activación de los receptores 5-HT₂, ya que el bloqueo de los mismos disminuye la liberación de DA inducida por MDMA (Nash, 1990; Schmidt y cols., 1994; Yamamoto y cols., 1995) y su activación la potencia (Gudelsky y cols., 1994). En concreto, parece que los subtipos 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} ejercen un efecto opuesto en la liberación de DA, produciendo un efecto excitador los primeros, y un efecto inhibitor los segundos (Lucas y cols., 2000b). El mecanismo por el que se produce esta potenciación de la liberación de DA parece mediado por una reducción del efecto inhibitorio que en condiciones normales ejercen las neuronas gabaérgicas en la sustancia negra, ya que la activación de los receptores 5-HT₂ disminuye la concentración de GABA en esta región, lo cual produciría una desinhibición de la liberación de DA en el estriado (Yamamoto y cols., 1995). La proteína quinasa C (PKC), implicada en los mecanismos de señalización intracelular que se activan con la estimulación de los receptores 5-HT₂, también parece implicada en esta liberación de DA inducida por la MDMA en el estriado, ya que la activación directa de la PKC potencia este efecto y su inhibición lo suprime (Nair y Gudelsky, 2004; Gudelsky y Yamamoto, 2008).

La MDMA produce un marcado incremento en la DA extracelular en el N. Acc (Marona-Lewicka y cols., 1996; Kankaanpää y cols., 1998; Bankson y Yamamoto, 2004; Cadoni y cols., 2005; O'Shea y cols., 2005; Amato y cols., 2007) y este incremento de DA también parece modulado por interacciones entre la 5-HT y el GABA. Sin embargo, esta influencia se da en dirección opuesta a la que ocurre en el sistema nigroestriatal. Aquí, el incremento en la liberación de GABA en el área tegmental ventral (ATV), posterior a la activación de los receptores 5-HT_{2A/2C} limitaría la liberación de DA en el N. Acc. inducida por la MDMA (Bankson y Yamamoto, 2004). Además, diferentes factores como una elevada temperatura ambiente, la experiencia previa con la droga o la exposición previa a estrés crónico, pueden incrementar la liberación de DA en el N. Acc. producida por MDMA, incrementando la vulnerabilidad al abuso (O'Shea y cols., 2005; Amato y cols., 2007).

Otra región donde la administración de MDMA induce un incremento en la liberación de DA es la CPF. En esta región, la liberación de DA también se relaciona con la actividad de los receptores 5-HT₂ y de la PKC, aunque parece que en este caso la inhibición de la PKC incrementa la liberación de DA inducida por MDMA en la CPF (Nair y Gudelsky, 2004a). Parece que diferentes subtipos del receptor 5-HT₂ podrían tener efectos diferentes en la liberación de DA en la CPF, de forma que la estimulación de los receptores 5-HT_{2A} facilitan la liberación de DA en la CPF (Pehek y cols., 2006) mientras que los receptores 5-HT_{2C} limitarían la liberación de DA en esta misma región (Bonaccorso y cols., 2002).

La MDMA también provoca un incremento en los niveles extracelulares de DA en la región ventral del hipocampo. Este incremento de DA puede bloquearse administrando desipramina, un inhibidor de la recaptación de NA, o mediante lesión de las neuronas noradrenérgicas, sin afectar a la liberación de DA en el estriado, indicando que la liberación de DA que ocurre en el hipocampo se realiza desde los terminales noradrenérgicos (Shankaran y Gudelsky, 1998). Otro mecanismo por el que la MDMA favorecería la liberación de DA en el hipocampo es mediante el incremento de tirosina. Esta tirosina se convertiría posteriormente en DA en el interior de los terminales serotoninérgicos por medio de los radicales hidróxilo que se forman tras la administración de MDMA. Esta formación anómala de DA podría contribuir tanto a la liberación de DA inducida por MDMA, como al daño oxidativo producido en las neuronas serotoninérgicas (Breier y cols., 2006).

La MDMA también provoca liberación de NA en preparaciones in vitro (Fitzgerald y Reid, 1990; Rothman y cols., 2001) aunque la efectividad de la MDMA para liberar NA in vivo no se ha demostrado en estudios con microdiálisis ni se comprenden totalmente los mecanismos por los que se produce la liberación de NA (Green y cols., 2003).

Además de potenciar la liberación de monoaminas, la MDMA también incrementa la liberación de acetilcolina (ACh) en el estriado, hipocampo y CPF (Fischer y cols., 2000; Acqas y cols., 2001; Nair y cols., 2006b). Parece que esta liberación de ACh está mediada por la actividad del sistema dopaminérgico (receptores D₁),

serotoninérgico (receptores 5-HT₄) e histaminérgico (receptores H) (Fischer y cols., 2000; Nair y Gudelsky 2006a, 2006b; Gudelsky y Yamamoto, 2008), y podría contribuir al aprendizaje de las claves ambientales asociadas al consumo así como a las alteraciones perceptivas y al incremento en la sensibilidad sensorial producidos por la MDMA (Gudelsky y Yamamoto, 2008). La posterior activación de los receptores nicotínicos se ha relacionado con la neurotoxicidad y con procesos relacionados con la adicción y dependencia producida por la MDMA (García-Ratés y cols., 2007).

Como hemos visto, los principales efectos de la MDMA en la bioquímica cerebral serían los relativos a la liberación de 5-HT, relacionada con la mediación de los efectos subjetivos; la liberación de NA, relacionada con la activación autonómica, y la liberación de DA, relacionada con las propiedades euforizantes y recompensantes. Sin embargo, además de interactuar con los transportadores de monoaminas, provocando su liberación, la MDMA actúa directamente en otros receptores, los cuales contribuirían a modular los efectos de la droga. La interacción directa de la MDMA con los receptores 5-HT₂, nicotínicos, M₁ muscarínicos, adrenoreceptores alfa 2 y H₁ de histamina puede contribuir a las acciones centrales de la MDMA, ya que ha mostrado tener una elevada afinidad por estos receptores. Además presenta una afinidad algo menor por los receptores M₂ muscarínicos, alfa 1 adrenérgicos, beta-adrenérgicos y 5-HT₁, y por último, presenta baja afinidad por los receptores dopaminérgicos D₁ y D₂ (Battaglia y cols., 1988; García-Ratés y cols., 2007).

La actividad en los receptores alfa 2 adrenérgicos puede contribuir a su potencial de abuso y efectos cardiovasculares y autonómicos, como el incremento en la presión arterial (Lavelle y cols., 1999) y dado que estos receptores están localizados en algunos terminales serotoninérgicos, también podrían contribuir a la inducción de la liberación de 5-HT (Green y cols., 2003). Como ocurre con los compuestos alucinógenos, la MDMA posee afinidad por el receptor 5-HT₂, lo cual podría explicar las alteraciones perceptivas que provoca en humanos (Sadzot y cols., 1989, Egan y cols., 1998; Liechti y Vollenweider, 2001) y las alteraciones etológicas observadas en roedores (Navarro y Maldonado, 1999). La actividad de la MDMA en los receptores 5-HT₂ parece estereoespecífica. El isómero R- exhibe mayor potencia y eficacia en el

receptor 5-HT_{2A} que el isómero S-, mientras que lo contrario ocurre con el receptor 5-HT_{2C} (Nash y cols., 1994). Por su parte, la estimulación de los receptores 5-HT_{1B} parece implicada en la hiperactividad inducida por MDMA (McCreary y cols., 1999; Bankson y Cunningham, 2001).

Además de los receptores clásicos, se ha demostrado que la MDMA tiene alta afinidad y eficacia por un receptor acoplado a la proteína G y estimula la producción de AMPc, cuyo ligando endógeno podría ser una amina como la tiramina (Bunzow y cols., 2001). A diferencia de los receptores de monoaminas clásicos, este receptor está localizado en el citosol, posiblemente en la membrana vesicular. Ya que la MDMA se transporta al interior del terminal serotoninérgico, podría esperarse una actividad significativa en este receptor. Sin embargo, la expresión de este receptor en el cerebro de la rata es baja, por lo que su relevancia para los efectos psicoactivos de la MDMA no está clara (Green y cols., 2003).

Junto con el efecto estimulante de la MDMA en la liberación de monoaminas, y su actividad directa en diferentes receptores, como los mencionados anteriormente, se ha descrito que la MDMA incrementa la concentración extracelular de los sustratos energéticos cerebrales como la glucosa y el lactato. Mecanismos serotoninérgicos y noradrenérgicos parecen contribuir a las acciones de la MDMA en las concentraciones de glucosa cerebral, aunque la fuente de este incremento en la glucosa cerebral y su posible relación con el flujo sanguíneo cerebral o con la utilización de glucosa no se conocen (Gudelsky y Yamamoto, 2008).

Así, los efectos de la MDMA son consecuencia principalmente de la liberación de monoaminas, con la consiguiente activación de sus receptores y en menor medida, por la actividad directa de la MDMA en múltiples receptores, y probablemente por la movilización de los recursos energéticos cerebrales.

3.2. Farmacocinética de la MDMA.

La MDMA y los compuestos anfetamínicos relacionados son bases débiles, de bajo peso molecular, escasa unión a proteínas y un alto volumen de distribución. Estas

propiedades químicas le confieren una fácil difusión a través de las membranas celulares, membranas lipídicas y tejidos con un pH más ácido que la sangre (de la Torre y cols., 2004b). Es bien absorbida cuando se consume oralmente y sus concentraciones máximas aparecen entre 1.5 y 3 horas después del consumo (Capela y cols., 2009). La MDMA sólo puede ser bioquímicamente detectada hasta 24-48 horas después de su consumo, aunque los efectos psicológicos y somáticos pueden persistir durante varios días (Curran, 2000). Los datos provenientes de las investigaciones con humanos indican que la vida media de eliminación es de aproximadamente 8-9 horas, aunque que la eliminación de sus metabolitos requiere más tiempo (Mas y cols., 1999; de la Torre y cols., 2000, 2006). Se requieren aproximadamente 40 horas para eliminar el 95% de MDMA del cuerpo, lo cual podría explicar la persistencia de algunos efectos días después de su consumo (Kalant, 2001).

La MDMA presenta una farmacocinética no lineal, de forma que pequeños incrementos en la dosis provocan aumentos desproporcionados en las concentraciones plasmáticas. Esto ha podido observarse tanto en humanos (de la Torre y cols., 2000; Farré y cols., 2004) como en primates no humanos (Mueller y cols., 2008) o en ratas (Chu y cols., 1996). Por ejemplo, Farré y cols. (2004) evaluaron la cinética de la MDMA en humanos tras la administración de dos dosis separadas por un intervalo de 24 horas. Encontraron que la segunda dosis de MDMA incrementó de forma desproporcionada las concentraciones plasmáticas en comparación con la primera administración. Los efectos farmacológicos tras la segunda dosis fueron también ligeramente mayores a los observados tras la primera administración en la mayoría de parámetros, incluyendo presión arterial, tasa cardíaca, concentraciones de cortisol y la mayoría de efectos subjetivos. Esto podría explicarse por una saturación del metabolismo de la MDMA, así como por la interacción de los metabolitos de la MDMA con las enzimas implicadas en sus propias rutas metabólicas (Capela y cols., 2009). Esta característica de no linealidad en la farmacocinética de la MDMA supone un riesgo de intoxicaciones agudas y podría explicar algunos casos de muerte por consumo de éxtasis, así como la mayor proporción de efectos adversos observados en mujeres, ya que presentan un menor

peso corporal medio (de la Torre y cols., 1999; Topp y cols., 1999; Ter Bogt y Engels, 2005).

En humanos y en ratas, la MDMA se metaboliza principalmente en el hígado. En humanos la principal ruta metabólica incluye la O-desmetilación a 3,4-dihidroximetanfetamina (HHMA), reacción mediada por el complejo enzimático del citocromo P450, concretamente las subfamilias CYP2D y CYP2B, y principalmente el subtipo 2D6 (CYP2D6). Después se produce la O-metilación a 4-hidroxi-3-metoximetanfetamina (HMMA) una reacción regulada por la catecol-O-metiltransferasa (COMT). A una tasa menor en humanos, la MDMA es N-desmetilada a MDA (reacción principalmente regulada por CYP2B6), posteriormente es metabolizada a 3,4 dihidroxianfetamina (HHA) y finalmente O-metilada a 4-hidroxi-3-metoxianfetamina (HMA). Tanto la HHMA como la HHA pueden experimentar O-metilación a HMMA y HMA respectivamente. Esta reacción está regulada por la COMT (Capela y cols., 2009).

La mayoría de los metabolitos de la 1ª fase son posteriormente conjugados por las enzimas de la 2ª fase, COMT, sulfotransferasa (SULT) o glucuronosiltransferasa (UDPGT), y excretados como los respectivos conjugados. La HHMA también puede ser oxidada a su correspondiente quinona y formar aductos con glutatión y otros compuestos con thiol. Los conjugados con glutatión pueden sufrir un metabolismo posterior vía ácido mercaptúrico mediante gamma-glutamilttransferasa y dipeptidasa a la correspondiente cisteína y finalmente mediante N-acetiltransferasa a conjugados con N-acetilcisteína (Capela y cols., 2009).

Exceptuando al ratón, las principales reacciones en el metabolismo de la MDMA son similares en los humanos y los animales de laboratorio. Sin embargo las proporciones e importancia relativa de estas vías metabólicas muestran diferencias cuantitativas relevantes (de la Torre y cols., 2004b). En ratas la N-desmetilación que conduce a la formación de MDA es una de las principales rutas metabólicas a dosis bajas (Chu y cols., 1996), mientras que en humanos la O-desmetilación de la MDMA a HHMA predomina en todas las dosis probadas (de la Torre y cols., 2004a). Por el contrario, en ratones el principal producto químico encontrado es MDMA (Lim y cols., 1993). Estas diferencias en el metabolismo de la MDMA entre animales de

experimentación y humanos dificulta la extrapolación de los datos experimentales en modelos animales (de la Torre y cols., 2004b).

En referencia al aclaramiento de la MDMA en humanos, alrededor del 80% de la droga se transforma metabólicamente en el hígado, excretándose aproximadamente el 20% de la dosis por orina sin alterar (de la Torre y cols., 2000; Segura y cols., 2001). La excreción urinaria de MDMA tras la administración de diferentes dosis parece ser constante (de la Torre y cols., 2000), aunque depende del pH de la orina, por lo que si ésta se acidifica se incrementa la eliminación, lo cual suele hacerse en casos de intoxicación (López-Muñoz, 2004). Por el contrario, el aclaramiento no renal es dependiente de la dosis, sugiriendo un deterioro del metabolismo hepático de la MDMA con dosis altas (de la Torre y cols., 2000). La vida media de eliminación de la MDMA se sitúa en un rango entre 6 y 8 horas (Segura y cols., 2001). Se ha descrito un aclaramiento enantioselectivo en humanos. La forma (S)-MDMA ha mostrado tener una menor vida de eliminación (4.8 h), asociándose este componente de la mezcla racémica con sus efectos subjetivos y psicomotores. Por el contrario, el enantiómero (R)-MDMA tiene una vida media de eliminación mayor (14.8 h) en humanos, y se piensa que está asociado con los efectos cognitivos y en el estado de ánimo que se experimentan los días posteriores al consumo de MDMA (Pizarro y cols., 2004). Además, la variabilidad genética en las enzimas metabólicas explicarían una parte significativa de la variabilidad en la farmacocinética de la MDMA (Meisel y cols., 2003). Así, algunos individuos pueden ser más susceptibles a los efectos adversos de determinados fármacos; estos genotipos se asocian frecuentemente con intoxicaciones idiosincráticas (Evans y Relling, 1999).

Muchas de las enzimas que participan en el metabolismo de la MDMA se expresan de forma polimórfica, lo que puede influir en la farmacocinética y consecuentemente la toxicidad de la MDMA y de las anfetaminas en general. Aproximadamente el 10% de la población caucásica expresa una isoenzima CYP2D6 con una actividad reducida, por lo que la vida media de eliminación de la MDMA sería mayor y posiblemente éstas personas fueran más vulnerables a los efectos tóxicos de esta droga (López-Muñoz y cols., 2004). Se cree que pueden existir combinaciones de genotipos escasamente frecuentes que tengan como consecuencia fenotipos de alta susceptibilidad, ya que las reacciones severas parecen ser independientes de la

dosis ingerida o de las concentraciones plasmáticas alcanzadas. Además, otros factores como edad, sexo, dieta, interacciones con medicamentos u otras drogas, estado de salud y estilo de vida, pueden alterar la distribución y los efectos de la droga (Capela y cols., 2009). Por ejemplo, fármacos como la fluoxetina o la paroxetina, u otras drogas como la cocaína, inhiben la desmetilación de la MDMA, lo cual podría afectar a su toxicidad (Ramamoorthy y cols., 2002). Igualmente, factores conductuales o ambientales como la elevada temperatura, un ambiente ruidoso o un esfuerzo físico intenso podrían potenciar la toxicidad de la droga (Capela y cols., 2009).

3.3. Efectos a corto plazo.

3.3.1. Efectos en animales de laboratorio.

3.3.1.1. Efectos fisiológicos.

En este apartado se comentan los principales efectos fisiológicos que produce la MDMA en animales de laboratorio.

- Efectos de la MDMA sobre la temperatura corporal.

La MDMA produce hipertermia en animales de laboratorio como ratones (Miller y O'Callaghan, 1994; Colado y cols., 2001; Johnson y cols., 2004; Carvalho y cols., 2002; Duarte y cols., 2005; Fantegrossi y cols., 2008; Granado y cols., 2008; Pontes y cols., 2008; Sharma y Ali, 2008; Bexis y Docherty, 2009; Touriño y cols., 2010), ratas (Nash y cols., 1988; Schmidt y cols., 1990a; Dafters, 1994; Colado y cols., 1998; Broening y cols., 1995; Malberg y Seiden, 1998; O'Shea y cols., 1998; Fernandez y cols., 2002; Mechan y cols., 2002; Bull y cols., 2004; Sánchez y cols., 2004; Geen y cols., 2005; Goni-Allo y cols., 2008; Shioda y cols., 2008; Wyethy cols., 2009; Rodsiri y cols., 2011) y primates no humanos (Crean y cols., 2006; Taffe y cols., 2006; Von-Huben y cols., 2007; Banks y cols., 2007), aunque en el caso de los ratones esta respuesta es más variable y en ocasiones bifásica, influyendo en el tamaño y dirección de la respuesta factores como la cepa o la dosis empleada

(Colado y cols., 2001; O'Shea y cols., 2001; Carvalho y cols., 2002; Johnson y cols., 2002a).

Los mecanismos biológicos involucrados en la hipertermia producida por la MDMA no se conocen totalmente. Se sabe que la temperatura ambiental influye en el efecto sobre la temperatura corporal de la MDMA y otras anfetaminas, observándose hipotermia en condiciones de baja temperatura e hipertermia en condiciones de alta temperatura ambiental. Esto se ha observado en ratones (Miller y O'Callaghan, 1994; Carvalho y cols., 2002) y ratas (Dafters, 1994; Broening y cols., 1995; Dafters y Lynch, 1998; Malberg y Seiden, 1998; Sánchez y cols., 2004; Green y cols., 2004, 2005; Goni-Allo y cols., 2008), situándose el punto de inflexión para producir uno u otro efecto, cercano a la temperatura ambiental a la que habitualmente se aloja a los animales (Dafters y Lynch, 1998). La temperatura a la que se realizan los experimentos es importante ya que los efectos de la MDMA sobre la tasa cardíaca, la actividad motora y como hemos visto, la temperatura corporal dependen de la temperatura ambiente, con mayores incrementos a temperaturas elevadas (30°C vs 21°C) (Jaehne y cols., 2008). Sin embargo, en macacos rhesus se han observado resultados dispares; en un estudio realizado por Banks y cols. (2007) se observó hipotermia a 18°C, ausencia de cambios a 24°C e hipertermia a 31°C, mientras que en otro, realizado por Von-Huben y cols., (2007) se observó un grado de hipertermia similar bajo diferentes condiciones de temperatura ambiental (18, 24 y 30°C).

Por otra parte, los efectos de la MDMA sobre la temperatura corporal parecen depender de la edad de los animales, ya que las alteraciones en la temperatura observadas en ratas de 40 o 70 días de edad a diferentes temperaturas ambientales no se observaron en ratas de 10 días de edad (Broening y cols., 1995). También se han observado diferencias en la respuesta de hipertermia a la MDMA en función del sexo de los animales. Así, mientras que ratas macho desarrollaron hipertermia tras la administración de MDMA, las hembras no mostraron esta respuesta (Wyeth y cols., 2009). Otro factor que influye en los efectos sobre la temperatura corporal es la experiencia previa con la droga, que puede producir una sensibilización a este efecto, ya que en ratas se han observado incrementos en la temperatura corporal mayores cuando habían sido sometidas a un tratamiento crónico o crónico intermitente (Dafters, 1995; Jaehne y cols., 2008), efecto que puede verse

incrementado bajo condiciones de elevada temperatura ambiental (Green y cols., 2004; Sánchez y cols., 2004).

Sin embargo, se ha demostrado la disociación entre los efectos sobre la temperatura corporal y sobre la actividad motora. Por ejemplo, Dafters (1995) observó que en condiciones de elevada temperatura ambiente puede aparecer una respuesta de hipertermia en ausencia de incremento en la actividad locomotora. Igualmente ha podido observarse un incremento de la actividad locomotora sin que ésta se acompañe de respuesta hipertérmica a una temperatura ambiental de 20 °C, mientras que a una temperatura ambiental de 30°C, la misma dosis produce una respuesta hipertérmica considerable sin producir mayor actividad motora que la observada en los animales controles (O'Shea y cols., 2005). Esta disociación entre los cambios en la actividad motora y los cambios en la temperatura ha podido observarse igualmente en macacos Rhesus (Crean y cols., 2006; Taffe y cols., 2006).

Pese a que el ejercicio físico por si mismo incrementa la temperatura en ratones, aunque en menor medida que la administración de MDMA, no se da un efecto acumulativo en la temperatura cuando éste se realiza tras la administración de MDMA. Sin embargo, mientras que los signos histológicos de daño muscular son raros en ratones que han realizado ejercicio físico, éstos son más pronunciados en ratones que han recibido MDMA y se agravan cuando los animales han realizado ejercicio físico bajo los efectos de la MDMA. Este efecto conjunto del ejercicio junto con la MDMA puede favorecer la toxicidad muscular que puede conducir a la rabdomiólisis (Duarte y cols., 2005).

Parece que la MDMA interfiere con los mecanismos de termorregulación. La dilatación de los vasos sanguíneos del rabo es el principal mecanismo por el que las ratas liberan calor para regular su temperatura. Se piensa que la MDMA puede afectar a los mecanismos implicados en la pérdida de calor corporal, ya que la temperatura del rabo de la rata no se altera, o disminuye, en función de la temperatura ambiental, tras la administración de MDMA (Mechan y cols., 2002a; Green y cols., 2005). De acuerdo con esto, la toxicidad y la letalidad de la MDMA se incrementa en animales alojados en condiciones de hacinamiento en comparación con los animales alojados individualmente, relacionándose este efecto con la

respuesta hipertérmica (Fantegrossi y cols., 2003). De forma similar, el material de la jaula en la que se aloja a los animales puede afectar a los resultados observados, de forma que ratas alojadas en jaulas de plástico muestran mayor hipertermia que ratas alojadas en jaulas con el suelo de rejilla metálica (Gordon y Fogelson, 1994). Además, la MDMA incrementa la tasa metabólica e incrementa la pérdida de vapor de agua (Gordon y cols., 1991), observándose mayor hipertermia en ratas privadas de agua en condiciones de alta temperatura (Dafters, 1995). La mayor letalidad de la MDMA en humanos en ambientes concurridos (Henry, 1992) puede ser análoga al efecto observado en animales de laboratorio por lo que la metodología de alojar a los animales en condiciones de hacinamiento puede ser un buen modelo de las condiciones ambientales en las que normalmente se consume esta droga (Fantegrossi y cols., 2003).

Los mecanismos de la hipertermia inducida por MDMA son multifactoriales y parecen implicar a los sistemas serotoninérgico, dopaminérgico y adrenérgico. La participación del sistema serotoninérgico en este efecto parece relacionada con la liberación de 5-HT, ya que la respuesta de hipertermia producida por la administración de una dosis de MDMA una semana después de haber recibido un régimen neurotóxico de MDMA, se reduce de forma considerable (Shankaran y Gudelsky, 1999). En concreto, la activación de los receptores 5-HT_{2A} parece importante en la mediación de este efecto ya que, la clozapina, olanzapina, risperidona, ritanserina, ketanserina, R-96544 y mirtazapina, todos ellos con propiedades antagonistas sobre estos receptores revierten la hipertermia inducida por MDMA en ratas (Blessing y Seaman, 2003; Blessing y cols., 2003; Ootsuka y cols., 2004; Shioda y cols., 2008; Kasai y cols., 2011), aunque Mehan y cols. (2002a) no observaron este efecto. Sin embargo, la administración de fluoxetina (Malberg y cols., 1996; Sánchez y cols., 2001; Mehan y cols., 2002a) o los antagonistas de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1/2}, 5-HT_{1A}, 5-HT₂, 5-HT_{2B/2C}, 5-HT_{2C} (Mehan y cols., 2002a; Shioda y cols., 2008) no previenen la hipertermia inducida por MDMA en ratas.

En cuanto al papel de la DA, parece que este efecto está mediado por los receptores D₁, ya que el antagonista D₁, SCH 23390 inhibe de forma dependiente de la dosis la hipertermia inducida por MDMA en ratas (Mehan y cols., 2002a; Shioda y

cols., 2008), mientras que los antagonistas dopaminérgicos D₂ remoxiprida, sulpiride y L-741626 no antagonizan esta respuesta (Mechan y cols., 2002a; Shioda y cols., 2008). De acuerdo con lo observado en ratas, Sugimoto y cols. (2001) han informado que el SCH 23390 bloquea la hipertermia inducida por p-cloroanfetamina en ratones, un compuesto liberador de 5-HT, mientras que el sulpiride (antagonista D₂) no la modifica. Sin embargo, la respuesta hipotérmica de la MDMA en ratas alojadas a 15°C se bloquea mediante la administración de remoxiprida, mientras que el SCH 23390 no la modifica (Green y cols., 2005), por lo que los receptores D₂ estarían implicados en la respuesta de hipotermia en ambientes con baja temperatura.

Así, el mecanismo subyacente a la hipertermia inducida por MDMA en ratas parece dependiente de la activación de los receptores 5-HT_{2A} y D₁, mientras que los receptores D₂ estarían relacionados con la respuesta de hipotermia. Fármacos como la risperidona o la onlazapina, con propiedades antagonistas de estos receptores, podrían tener valor clínico en el manejo terapéutico de los efectos hipertérmicos de la MDMA en humanos (Blessing y Seaman, 2003; Shioda y cols., 2008).

Los mecanismos implicados en los cambios en la temperatura producidos por la MDMA difieren entre ratas y ratones. El SERT parece implicado en estos efectos sólo en el caso de los ratones. Así, la administración previa de fluoxetina impide el aumento de la temperatura corporal inducido por MDMA en ratones (O'Shea y cols., 2001), pero no en ratas (Malberg y cols., 1996; Sánchez y cols., 2001; Mechan y cols., 2002a), aunque Kasai y cols. (2011) observaron que la administración previa de fluoxetina atenuó de forma significativa la hipertermia inducida por MDMA, aunque la administración de fluoxetina posterior a la MDMA no tuvo efecto. Por el contrario el DAT no estaría implicado ya que el pretratamiento con GBR 12909, un inhibidor de la recaptación de DA, no modifica la respuesta térmica en ratones (O'Shea y cols., 2001; Camarero y cols., 2002).

También se ha reconocido la importancia de los receptores adrenérgicos en la hipertermia inducida por MDMA. En concreto se ha señalado la participación de los receptores α_1 , α_2 , β_1 y β_3 (Sprague y cols., 2003a, 2004, 2005; Bexis y Docherty, 2009) y de los subtipos α_{1A} , α_{2A} y α_{1D} (Bexis y Docherty, 2005, 2008). La MDMA activa los receptores centrales α_2 y los periféricos α_1 , produciendo vasoconstricción

por lo que se limita la pérdida de calor y los receptores β_3 en el tejido adiposo incrementando la generación de calor (Docherty y Green, 2010). Además, se ha propuesto que la termogénesis inducida por la MDMA se produce como consecuencia de la interacción entre el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal y el SN simpático (Sprague y cols., 2003a).

Recientemente se ha señalado la participación del sistema endocannabionide en la mediación de la hipertermia inducida por MDMA, ya que la administración crónica de delta-9-tetrahidrocannabinol (THC) durante la adolescencia atenúa la respuesta de hipertermia producida por la MDMA en ratas (Shen y cols., 2011).

A nivel intracelular se ha señalado la participación de la proteína de desacople 3 (UCP-3) en la termogénesis inducida por MDMA. Las proteínas mitocondriales de desacople desvían la energía producida por la respiración celular de la síntesis de ATP a la producción de calor. Se ha observado que los ratones KO para esta proteína, a pesar de mostrar una misma temperatura basal que los ratones *wild type* (WT), mostraron un incremento significativamente menor en la temperatura tras la administración de MDMA (Mills y cols., 2003)

Debido al complejo mecanismo bioquímico que participa en la mediación de la hipertermia inducida por MDMA, parece poco probable que ningún fármaco pueda revertirla completamente por sí mismo, por lo que la principal aproximación clínica continúa siendo las medidas físicas de enfriamiento. La información a los usuarios recreacionales sobre los peligros de la hipertermia y el control de la temperatura ambiente deben continuar como aproximaciones clave para prevenir esta complicación potencialmente fatal (Docherty y Green, 2010).

- Efectos sobre el sistema endocrino.

La MDMA promueve cambios neuroendocrinos, promoviendo la secreción de prolactina, corticosterona y grelina, y reduciendo las concentraciones séricas de hormona del crecimiento, leptina y neuropeptido Y (Nash y cols., 1988; Connor y cols., 1998; Kobeissy y cols., 2008; Graham y cols., 2010; Murnane y cols., 2010;

Ferraz-de-Paula y cols., 2009, 2011). Los estereoisómeros de la MDMA tienen efectos diferentes sobre la secreción de prolactina, de forma que el compuesto R(-)-MDMA incrementa los niveles plasmáticos de prolactina, mientras que la forma S(+)-MDMA no tiene efecto, y la mezcla racémica conduce a un nivel intermedio de prolactina (Murnane y cols., 2010). Los mecanismos por los que la MDMA induce estos cambios endocrinos no se conocen todavía, aunque tanto la hipertermia como la deplección serotoninérgica parecen jugar un papel importante (Capela y cols., 2009).

Además, la exposición a MDMA reduce los niveles hipotalámico y gonadal del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal, provocando menores niveles de ARNm para la producción de la hormona hipotalámica liberadora de gonadotropina (GnRH) y menores niveles séricos de testosterona en ratas tratadas de forma aguda o crónica con MDMA (Dickerson y cols., 2008).

- Efectos en el sistema inmune.

La administración de MDMA también se ha asociado con alteraciones en el funcionamiento del sistema inmune en animales de laboratorio, incrementando la susceptibilidad a las enfermedades infecciosas (Connor y cols., 2000; Ferraz-de-Paula y cols., 2009; Boyle y Connor, 2010). La mayoría de las alteraciones causadas por la MDMA no son el resultado de su acción directa en las células del sistema inmune, sino que están causadas por la liberación de sustancias endógenas inmunomoduladoras (Connor, 2004; Boyle y Connor, 2010).

- Efectos cardiovasculares.

En ratas la MDMA produce alteraciones en el funcionamiento cardiovascular, manifestadas por incrementos dependientes de la dosis en la presión arterial, llegando a producir taquicardia y arritmias (O'Cain y cols., 2000; Badon y cols., 2002). De forma similar, en conejos la administración de MDMA provoca un incremento en la tasa cardíaca y un descenso en la duración del ciclo cardíaco

(Tiangco y cols., 2010). Además, se ha determinado que los efectos en la tasa cardíaca dependen de la temperatura ambiente, produciéndose mayores incrementos a temperaturas elevadas (30°C vs 21°C), aunque se produce tolerancia a este efecto (Jaehne y cols., 2008).

3.3.1.2. Efectos conductuales.

En este apartado se comentan algunas de las investigaciones realizadas principalmente en roedores sobre los efectos conductuales de la MDMA en relación a la actividad motora, la ansiedad y la memoria. Las investigaciones sobre los efectos reforzantes se tratarán con mayor detalle en el apartado dedicado a los antecedentes.

- Síndrome serotoninérgico inducido por MDMA.

La administración de MDMA produce la aparición de las principales características del síndrome serotoninérgico. Las características de este síndrome incluyen una mayor actividad locomotora, pisoteo recíproco con las patas delanteras ("reciprocal forepaw treading"), retracción de las extremidades posteriores ("hind limb abduction"), postura baja del cuerpo, proptosis, ataxia, erección del pene, eyaculación, salivación, piloerección, defecación, convulsiones y posible muerte en función de la dosis (Spanos y Yamamoto, 1989; Colado y cols., 1993; Piper y cols., 2005; Morley y cols., 2005). Con administraciones repetidas de MDMA se observa sensibilización a estos efectos (Spanos y Yamamoto, 1989).

- Efectos sobre la actividad motora.

La administración de MDMA produce un incremento de la actividad motora en ratas, (Callaway y cols., 1990; McNamara y cols., 1995; Kehne y cols., 1996; Ball y cols., 2003; Balogh y cols., 2004; Bull y cols., 2004; Cassel y cols., 2004; Colussi-Mas y

Schenk, 2008; von Ameln y von Ameln-Mayerhofer, 2010; Roodsiri y cols., 2011) y ratones (Bengel y cols., 1998; Scearce-Levie y cols., 1999; Itzhak y cols., 2003; Benturquia y cols., 2008; Daza-Losada y cols., 2008, 2009; Touriño y cols., 2008; Ferraz-de-Paula y cols., 2011), junto con un descenso en las conductas exploratorias (Callaway y cols., 1990; Scearce-Levie y cols., 1999). Sin embargo, tiende a reducir la actividad motora en primates no humanos (Taffe y cols., 2006; Crean y cols., 2007; Von Huben y cols., 2007).

La experiencia previa con la droga puede modificar la respuesta de hiperactividad inducida por MDMA. Así, la exposición repetida a MDMA durante la adolescencia provoca sensibilización conductual, caracterizada por un incremento en la actividad realizada en la zona central de un campo abierto, en contraposición al aumento de actividad que se produce tras la administración aguda que se produce preferentemente en la zona periférica (Colussi-Mas y Schenk, 2008). Sin embargo, este efecto depende del enantiómero empleado ya que la administración repetida de S(+)-MDMA o de la mezcla racémica conduce a la sensibilización conductual, mientras que la administración de la forma R(-)-MDMA no provoca un incremento en la actividad motora tras su administración aguda e incluso produce un descenso de la misma tras su administración repetida (Von Ameln y von Ameln-Mayerhofer, 2010).

Factores como la cepa o el sexo de los animales empleados pueden influir en la respuesta de hiperactividad inducida por la MDMA. Se han observado diferencias en la actividad motora en respuesta a la MDMA entre ratas Fisher 344 y Lewis, incrementando esta respuesta una dosis de 10 mg/kg de MDMA en el caso de las ratas Fisher pero no en las Lewis (Fernandez y cols., 2003). Asimismo, se ha demostrado un dimorfismo sexual en la respuesta de hiperactividad inducida por MDMA en ratas, observándose en las hembras una mayor sensibilidad a este efecto así como en la tigmotaxis inducida por la droga (Paleinek y cols., 2005; Walker y cols., 2007).

A nivel anatómico la activación locomotora inducida por la exposición aguda a MDMA se ha relacionado con la activación neuronal, medida por inmunodetección de la expresión del gen de respuesta rápida Fos, en áreas como la corteza del N. Acc, pálido ventral, varios núcleos hipotalámicos y el núcleo talámico romboide. Sin

embargo, cuando se ha producido la sensibilización conductual el patrón de activación regional es diferente, implicando áreas como la corteza lateral del N. Acc, el núcleo central de la amígdala y la parte anteromedial de la habenula lateral, indicando que la sensibilización conductual implica neuroadaptaciones en diferentes circuitos (Colussi-Mas y Schenk, 2008).

A nivel bioquímico, la DA participa en la respuesta de hiperactividad inducida por la MDMA. En ratas se ha observado que ésta puede ser bloqueada mediante un pretratamiento con SCH 23390, antagonista de los receptores D_1 (Daniela y cols., 2004; Bubar y cols., 2004; Benturquia y cols., 2008) o con eticlopride, antagonista de los receptores D_2 (Bubar y cols., 2004). Así, la hiperactividad inducida por MDMA depende de la activación de los receptores D_1 y D_2 probablemente como consecuencia de la DA liberada por efecto de la droga (Kehne y cols., 1996; Bubar y cols., 2004). A nivel anatómico, se ha destacado el papel del estriado, ya que la administración de MDMA produce un efecto estimulante de la actividad neuronal de esta estructura, que correlaciona con la magnitud de la respuesta motora. El papel de los receptores D_1 y D_2 en esta estructura es diferente, ya que un antagonista D_1 retarda la activación motora así como la excitación neuronal en el estriado, mientras que un antagonista D_2 anula ambos efectos (Ball y cols., 2003). Además, los receptores D_1 y D_2 podrían mediar diferentes alteraciones en la actividad locomotora. Se ha observado que los receptores D_1 modifican el tipo de actividad (linear vs. circunscrita), mientras que los receptores D_2 contribuirían a la tigmotaxis producida por la MDMA. Sin embargo, los efectos motores producidos por la MDMA también se han observado en ratones KO para los receptores D_1 , D_2 y D_3 , lo que sugiere la implicación de otros mecanismos como el sistema serotoninérgico (Risbrough y cols., 2006).

De hecho, el efecto de la MDMA sobre la actividad motora está mediado por la liberación de 5-HT. La administración previa de ISRSs o el descenso en la concentración central de 5-HT mediante la administración previa de p-clorofenilalanina (un inhibidor selectivo de la enzima triptófano hidroxilasa, que participa en la síntesis de 5-HT) bloquean la hiperactividad inducida por MDMA (Callaway y cols., 1990). De forma similar, ratones KO para el SERT no muestran

hiperactividad tras la administración de MDMA (Bengel y cols., 1998). Respecto a los receptores implicados, se ha señalado el papel de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} (Callaway y cols., 1992; Kehne y cols., 1996; McCreary y cols., 1999; Scearce-Levie y cols., 1999; Bankson y Cunningham, 2002; Fletcher y cols., 2002, 2006; Compan y cols., 2003; Herin y cols., 2005).

El sistema serotoninérgico modula la función dopaminérgica mesolímbica. Los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} modulan la liberación de DA, mostrando un papel facilitador los primeros y un papel inhibitorio los segundos (Gobert y cols. 2000; Lucas y Spampinato, 2000; Ball y Rebec, 2005). El bloqueo de los receptores 5-HT_{2A} disminuye casi completamente la excitación neuronal en el estriado y atenúa la activación motora inducida por MDMA (Kehne y cols., 1996; Fletcher y cols., 2002, 2006; Ball y Rebec, 2005; Herin y cols., 2005). Además, el bloqueo de los receptores 5-HT_{2A} reduce la tigmotaxis y la exploración vertical en ratas (Herin y cols., 2005). Por su parte, el bloqueo de los receptores 5-HT_{2C} favorece la hiperactividad inducida por MDMA y por otros agonistas dopaminérgicos y serotoninérgicos indirectos, lo que sugiere que la activación de los receptores 5-HT_{2C} inhibe los efectos estimulantes motores de la MDMA (Bankson y Cunningham, 2002; Fletcher y cols., 2002, 2006). Se ha propuesto que esta potenciación de la activación motora estaría mediada tanto por el aumento de la actividad dopaminérgica como por la activación de los receptores serotoninérgicos excitatorios (posiblemente 5-HT_{1B/2A}) producido por el bloqueo de los receptores inhibitorios 5-HT_{2C} (Ball y Rebec, 2005; Fletcher y cols., 2006).

Además, la hiperactividad inducida por la MDMA en ratas y ratones depende de la activación de los receptores 5-HT_{1B} (Callaway y cols., 1992; McCreary y cols., 1999; Scearce-Levie y cols., 1999; Fletcher y cols., 2002; Compan y cols., 2003) lo cual conduce a una reducción de los niveles de encefalinas en el globo pálido (Compan y cols., 2003). Se ha observado que la administración de naloxona (antagonista opiáceo) suprime los efectos motores de la MDMA. Por lo tanto, se ha sugerido que las encefalinas contribuyen a los efectos sobre la actividad motora inducidos por la MDMA, posiblemente como consecuencia de la disminución de encefalinas en el globo pálido tras la activación de los receptores 5-HT_{1B} (Compan y cols., 2003).

Los receptores 5-HT_{2B} también están implicados en la estimulación motora inducida por MDMA. Así, la inhibición farmacológica o la ablación genética de estos receptores en ratones suprime la hiperlocomoción inducida por MDMA, así como la liberación de 5-HT en el N. Acc y el ATV (Doly y cols., 2008).

Además del dopaminérgico y el serotoninérgico, se ha señalado la participación de otros mecanismos en la respuesta de hiperactividad inducida por la MDMA. Los receptores CB₁ participan en este efecto, ya que el incremento en la actividad motora producido por la administración de MDMA es menor en ratones KO para este receptor (Tourño y cols., 2008) y el CP 55940 y el THC, agonistas cannabinoides, reducen la hiperactividad locomotora inducida por MDMA (Morley y cols., 2004). Sin embargo, el rimonabant, antagonista CB₁ reduce o no modifica esta respuesta (Morley y cols., 2004; Tourño y cols., 2007).

A nivel de señalización intracelular, se ha señalado el papel de la proteína kinasa ERK, señalando la implicación de la cascada de señalización dependiente de la familia de proteínas Ras, ya que un inhibidor selectivo de la misma, bloqueó las propiedades estimulantes motoras de la MDMA en ratones (Salzmann y cols., 2003).

- Efectos sobre la ansiedad.

Los estudios sobre los efectos agudos de la MDMA en la ansiedad muestran mayoritariamente una acción ansiogénica, aunque los efectos encontrados dependen de la dosis, la especie y el método empleado, por lo que parece que la MDMA es capaz de activar los mecanismos neurales excitadores e inhibidores de la ansiedad (Lin y cols., 1999, Daza-Losada y cols., 2009).

Con la técnica del Laberinto elevado en cruz (LEC) se ha determinado la respuesta ansiogénica a la MDMA en ratones (Lin y cols., 1999; Navarro y Maldonado, 2002) y ratas (Morley y McGregor, 2000; Sumnall y cols., 2004; Ho y cols., 2004). Sin embargo, los efectos de la MDMA sobre la ansiedad dependen especialmente de la dosis empleada ya que bajas dosis (entre 4 y 8 mg/kg) producen efectos ansiógenos, mientras que dosis altas (entre 10 y 20 mg/kg) producen efectos

ansiolíticos, situándose la dosis de transición entre ambos efectos aproximadamente en 10 mg/kg en ratones (Lin y Cols., 1999; Ho y cols., 2004; Ferraz-de-Paula y cols., 2011). Por su parte, Navarro y Maldonado (2002) observaron un efecto ansiogénico con una dosis intermedia (8 mg/kg), sin observar efectos sobre la ansiedad con 1 y 15 mg/kg.

Además, no parece desarrollarse tolerancia a estos efectos, ya que los efectos ansiogénicos de la MDMA encontrados tras la administración aguda, no sólo se mantienen, sino que se incrementan tras un tratamiento durante 5 días. De hecho, este efecto puede observarse incluso con una dosis muy baja de MDMA (1 mg/kg). En cuanto al efecto de la edad, la MDMA no parece ejercer un efecto intenso sobre la ansiedad cuando se administra a ratones adolescentes, ya que en un estudio realizado previamente en nuestro laboratorio, sólo se observó una tendencia hacia un efecto ansiogénico con la dosis más alta de las probadas (20 mg/kg), que produjo un descenso en el tiempo pasado en los brazos abiertos del LEC (Daza-Losada y cols., 2009).

Con la prueba de interacción social se ha descrito tanto un incremento (Navarro y Maldonado, 1999; Maldonado y Navarro, 2001; Navarro y cols., 2004; Ando y cols., 2006) como una disminución (Morley y McGregor, 2000; Cornish y cols., 2003; Morley y cols., 2005; Ando y cols., 2006) de la ansiedad inducida por MDMA en los animales sometidos a esta prueba. Por ejemplo, en ratones, la MDMA (5-20 mg/kg) disminuye considerablemente las conductas ofensivas sin afectar a la inmovilidad en ratones adultos OF1 aislados. Sin embargo también disminuye la investigación social y aumenta las conductas de exploración a distancia, evitación/huida y defensa/sumisión, por lo que este patrón sugiere que el efecto de la MDMA es ansiogénico en estos animales (Navarro y Maldonado, 1999; Maldonado y Navarro, 2001). Ando y cols. (2006) han informado que en ratas, la administración aguda de MDMA provoca cambios en la conducta que pueden ser interpretados tanto como un descenso o como un incremento en la ansiedad, ya que se produjo un descenso en los elementos más típicos de la interacción social, pero se incrementó el tiempo que los animales permanecían recostados junto al coespecífico, una conducta que también contiene elementos sociales. De forma similar, en nuestro laboratorio hemos observado cómo la administración de 20 mg/kg de MDMA a ratones adolescentes

produce menos contactos sociales y un descenso en el tiempo medio dedicado a cada contacto. Sin embargo, la dosis de 5 mg/kg provocó resultados opuestos, incrementando el tiempo total y el tiempo medio dedicado a cada encuentro social (Daza-Losada y cols., 2009). A este respecto, en ratas también se ha descrito un efecto prosocial, reductor de la agresividad y ansiolítico con el test de interacción social, con dosis iguales o inferiores a 5 mg/kg (Morley y McGregor, 2000; Morley y cols., 2005). De forma similar, Miczek y Haney (1994) informaron de una reducción dependiente de la dosis de MDMA, de las conductas agresivas en ratones adultos. La ausencia de tolerancia a los efectos ansiogénicos ha sido descrita también en encuentros agonísticos tras la administración subcrónica de dosis bajas de MDMA en ratones. Por el contrario, ratones tratados subcrónicamente con 15 mg/kg de MDMA muestran signos de ansiólisis que no mostraron con el tratamiento agudo (Navarro y Maldonado, 2002).

Morley y McGregor (2000) observaron que la MDMA produce efectos diferentes en función de la prueba conductual empleada para evaluar la ansiedad. Así, la administración de 1.25-5 mg/kg de MDMA produce signos de ansiedad en ratas cuando ésta se evalúa mediante las pruebas de emergencia, LEC y la prueba de evitación del olor de un gato, mientras que produce signos de ansiólisis en la prueba de interacción social y en la evaluación de las vocalizaciones inducidas por una descarga eléctrica en las patas. Por su parte, Maldonado y Navarro (2000) proponen que las pruebas que contemplan la conducta social de los animales serían las más sensibles a los efectos de la MDMA. Recientemente Ferraz-de-Paula y cols. (2011) han realizado diferentes pruebas conductuales para evaluar la ansiedad en ratones tras la administración de diferentes dosis de MDMA, concluyendo que, a pesar de que el incremento de la actividad motora interfirió en la expresión de las conductas de ansiedad en algunas pruebas conductuales, en general la MDMA parece tener un efecto ansiogénico.

Aunque no se conocen totalmente los mecanismos por los que la MDMA afecta a la ansiedad, se ha señalado que la liberación masiva y prolongada de 5-HT, junto con la estimulación dopaminérgica, podrían ser los responsables de los efectos de la MDMA sobre la ansiedad (Maldonado y Navarro, 2001). Diferentes estudios señalan la participación del sistema serotoninérgico en la modulación de la ansiedad y las

conductas sociales (Graeff y cols., 1997; Menard y Treit, 1999; Homberg y cols., 2007). Por ejemplo, en ratas adolescentes se ha observado que los incrementos tanto agudos como constitutivos en la neurotransmisión serotoninérgica reducen la conducta de juego en estos animales. Así, las ratas KO para el SERT mostraron menores tasas de conductas de juego, sin afectar a otros aspectos sociales. Además, el tratamiento agudo con fluoxetina o MDMA reduce de forma dependiente de la dosis esta conducta, mientras que la MDMA también suprime otras interacciones sociales, aunque a dosis mayores de las necesarias para reducir el juego social (Homberg y cols., 2007). En el caso de la MDMA los efectos sobre la ansiedad aparecerían probablemente como resultado de la estimulación indirecta de los receptores serotoninérgicos tras el incremento en los niveles sinápticos de 5-HT. Sin embargo, el efecto ansiogénico de la MDMA, medido con el test de emergencia no parece relacionado con los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} o 5-HT_{2C} ya que la administración de antagonistas de estos receptores no previene este efecto (Morley y cols., 2005).

Como se ha comentado, en algunas ocasiones se han observado incrementos en las conductas sociales tras la administración de MDMA. Los receptores 5-HT_{1A} parecen implicados en los efectos prosociales de la MDMA, ya que el bloqueo de estos receptores evita la aparición de los mismos en la prueba de interacción social (Morley y cols., 2005). Más específicamente, parece que la estimulación de los receptores 5-HT_{1A} facilita la liberación de oxitocina y ésta a su vez favorece las conductas prosociales (Thompson y cols., 2007). Además, se ha demostrado que los efectos prosociales de la MDMA pueden modificarse en función de la temperatura ambiente. El incremento en las conductas sociales en ratas tras la administración de 5 mg/kg de MDMA que se produce tanto a 21° como a 30°C, es mayor en la condición de temperatura ambiental elevada, por lo que se ha sugerido que las condiciones de elevada temperatura podrían favorecer el consumo de la droga, debido tanto a la potenciación de estos efectos, como a la mayor eficacia reforzante de la droga, ya que en estas condiciones los animales se autoadministraron más infusiones de MDMA (Cornish y cols., 2003). Otro aspecto que puede afectar a los efectos prosociales de la MDMA es la experiencia previa con la droga. Así, se ha observado

una menor sensibilidad a este efecto en ratas que fueron expuestas a la MDMA 3 meses antes de la evaluación (Thompson y cols., 2008).

A nivel anatómico, se ha observado un incremento en la expresión del gen de expresión inmediata c-fos, en los núcleos basolateral y central de la amígdala tras la administración de MDMA a ratones sometidos a la prueba de interacción social. Se piensa que esta activación podría estar relacionada con los efectos ansiogénicos de la droga (Navarro y cols., 2004). Además, los efectos de la MDMA pueden variar dependiendo de si ésta se administra a un animal aislado o si se da en un contexto social. Una dosis moderada de MDMA dada en un contexto social provoca mayor activación cerebral que si la misma dosis se administra a ratas en solitario. Esta activación implica circuitos neurales relacionados con la conducta afiliativa. La administración de MDMA en un contexto social produce mayor activación de áreas como caudado-putamen, área preóptica medial, núcleo paraventricular del tálamo, amígdala central y medial, y núcleo ventromedial del hipotálamo. Además, las ratas que recibieron la MDMA en el contexto social, pero no las que lo recibieron en solitario, mostraron una mayor expresión de Fos en comparación a las tratadas con salino, en el N. Acc., el ATV y la sustancia gris periacueductal. La activación de estas áreas probablemente modularía el valor incentivo de los estímulos sociales (Thompson y cols., 2009).

- Efectos sobre la memoria.

La administración aguda de MDMA produce alteraciones en diferentes modelos de evaluación del aprendizaje y memoria (Frederick y cols., 1995a; Barrionuevo y cols., 2000; Byrne y cols., 2000; Taffe y cols., 2001; Spargue y cols., 2003b; Moyano y cols., 2004; Busceti y cols., 2008; Trigo y cols., 2008; Galizio y cols., 2009; Daza-Losada y cols., 2009; Kay y cols., 2010; Plaza-Zabala y cols., 2010). El agotamiento de 5-HT inducido por MDMA no parece necesario para observar el efecto negativo de la MDMA sobre la memoria (Ricaurte y cols., 1993; Santucci y cols., 1996; Moyano y cols., 2005), aunque si la liberación excesiva de 5-HT (Santucci y cols., 1996). Sin embargo, también existen estudios que no encuentran alteraciones

inducidas por la MDMA en la ejecución de tareas de aprendizaje y memoria tras su administración repetida (McNamara y cols., 1995), exposición prenatal (St Omer y cols., 1991) o después de un tratamiento con un régimen neurotóxico de MDMA (Timar y cols., 2003).

Frederick y cols. (1995a) evaluaron los efectos de la MDMA en monos rhesus, observando alteraciones en tareas de estimación del tiempo, aprendizaje y motivación, aunque en el caso de la medida referente a la motivación cabe la posibilidad de que el efecto anorexígeno de la MDMA pudiera explicar los resultados. Por el contrario, la MDMA no afectó a las tareas de memoria a corto plazo y atención, ni a la tarea de discriminación de color y posición. Según los autores del estudio, el tratamiento afectó a las conductas que requieren adquisición de nueva información, pero no a aquellas que reflejan la retención de información previamente adquirida. Las alteraciones producidas por las dosis administradas (0.1, 0.3 y 1 mg/kg) mostraron tolerancia tras administraciones repetidas y revirtieron al suprimir el tratamiento. De forma similar, en otro estudio realizado con monos rhesus, se observaron alteraciones en la ejecución de diferentes pruebas de memoria tras la administración de 10 mg/kg dos veces al día, durante 4 días, aunque la ejecución se normalizó una semana después del tratamiento (Taffe y cols., 2001).

En ratas la administración de MDMA o MDA antes del entrenamiento en la tarea de evitación pasiva empeora la ejecución de la prueba, en la evaluación realizada 24 horas después, siendo este deterioro similar en animales que previamente habían recibido un tratamiento neurotóxico de MDMA (Barrionuevo y cols., 2000; Moyano y cols., 2004). Además, el pretratamiento con MDMA interfiere de forma dependiente de la dosis con el aprendizaje y el recuerdo de la prueba de evitación activa, sugiriendo que la MDMA puede alterar los procesos cognitivos (Trigo y cols., 2008; Plaza-Zabala y cols., 2010). De forma similar, en un trabajo previo en nuestro laboratorio, se estudió el efecto de diferentes dosis de MDMA en ratones adolescentes en los resultados de la prueba de evitación pasiva. En este trabajo, todos los animales mostraron mayores latencias de entrada en el compartimento oscuro en la evaluación realizada 24 horas después del entrenamiento, indicando el recuerdo del mismo. Sin embargo, la administración de 20 mg/kg produjo una latencia de entrada mucho menor, indicando que la administración de la droga antes

de la sesión de entrenamiento afecta al aprendizaje de esta tarea (Daza-Losada y cols., 2009).

Sin embargo, Trigo y cols. (2008) informaron de una mejor ejecución de la prueba de evitación activa en ratones tras la administración aguda de MDMA, aunque este efecto era dependiente de estado y estaba relacionado con los efectos sobre la actividad motora, ya que cuando los datos se corrigieron con la actividad total, estos efectos desaparecieron. Sin embargo el grupo que recibió 3 mg/kg realizó la tarea mejor que los controles, pudiendo explicarse estos resultados por un incremento en la atención. De forma similar, Byrne y cols. (2000) informaron de una mejor ejecución en una tarea operante tras la administración de dosis bajas de MDMA (3.2 y 5.6 mg/kg) en ratas, aunque esto sólo sucedió cuando el reforzador se suministró inmediatamente. Por el contrario, los animales que recibieron 30 mg/kg dos veces al día, durante 4 días mostraron una peor ejecución de la tarea (Trigo y cols., 2008)

La MDMA también interfiere con la ejecución de la prueba de reconocimiento de un objeto novedoso en roedores (Camarasa y cols., 2008; Nawata y cols., 2010). El sistema glutamatérgico participaría en este efecto, ya que la administración de memantina lo bloquea (Camarasa y cols., 2008). Además, se han observado cambios en mecanismos moleculares como la reducción en la expresión de la subunidades NR1 y NR2B del receptor NMDA y de la calcio calmodulina quinasa II (CaMKII) en el hipocampo de la rata (Moyano y cols., 2004), aunque estas alteraciones parecen transitorias (Moyano y cols., 2005).

Según Kay y cols., (2010), las alteraciones en la ejecución de las pruebas para evaluar la memoria estarían mejor caracterizadas como alteraciones en la memoria de referencia más que como un deterioro en la memoria de trabajo. La memoria de referencia se operacionaliza en función de la precisión cuando la información (o la respuesta apropiada en base a esa información) permanece constante de forma indefinida; mientras que la memoria de trabajo se refiere a la precisión en una tarea en situaciones en las que la información (o las respuestas apropiadas en base a esa información) cambia frecuentemente. Por ejemplo, en una tarea de memoria en el laberinto radial en cada ensayo se permitía a las ratas realizar cuatro visitas para conseguir los reforzadores colocados al final de los brazos del aparato. Los errores

de memoria de trabajo se definieron como la repetición en visitar un brazo previamente visitado durante un ensayo, mientras que visitar un brazo en el que nunca se había colocado un reforzador se consideró un error de memoria de referencia. En esta tarea la administración de MDMA produjo significativamente más errores de memoria de referencia frente a los errores de memoria de trabajo.

Se ha señalado la participación de los receptores cannabinoides CB₁ en los efectos de la MDMA sobre el aprendizaje y la memoria. Estos receptores tienen altos niveles de expresión en regiones cerebrales importantes para el aprendizaje y la memoria. Así, las alteraciones en el reconocimiento de un objeto novedoso causadas por la retirada de MDMA en ratones tratados con 10 mg/kg durante 7 días, se bloquearon administrando un antagonista del receptor CB₁ antes del ensayo de entrenamiento o coadministrado junto con la MDMA. De forma similar, ratones KO para este receptor no mostraron alteraciones en el reconocimiento del objeto en la retirada de MDMA (Nawata y cols., 2010).

La oleil-etanolamida (OEA) puede modular los déficits cognitivos inducidos por MDMA. La OEA es un ligando endógeno para el receptor del peroxisoma activado por proliferadores alfa (PPAR- α) un receptor nuclear que regula diversos aspectos del metabolismo de las grasas (Fu y cols., 2003). El pretratamiento con 5 mg/kg de OEA revirtió los déficits en el aprendizaje de la tarea de evitación activa tras la administración de 30 mg/kg de MDMA durante 4 días consecutivos, siendo estos efectos persistentes en el test de recuerdo realizado 5 días después. Además, el tratamiento con OEA previno la reducción estriatal del DAT, aunque este efecto no se relacionó con la mejora en la tarea de evitación activa, ya que la prevención en la pérdida del DAT se dio también con una dosis de OEA que empeoró la ejecución en la tarea conductual (Plaza-Zabala y cols., 2010).

Otro mecanismo que se ha relacionado con las alteraciones que produce la MDMA en la memoria es la fosforilación de la proteína tau, un índice bioquímico relacionado con la enfermedad de Alzheimer, la demencia frontotemporal y otros trastornos neurodegenerativos caracterizados por un declive cognitivo progresivo, ya que un tratamiento agudo o subcrónico con MDMA incrementó la fosforilación de la proteína tau en el hipocampo (Busceti y cols., 2008).

3.3.2. Efectos a corto plazo en humanos.

3.3.2.1. Efectos psicológicos.

Los estudios sobre los efectos de la MDMA en humanos señalan que produce un estado afectivo caracterizado por una mejora del estado de ánimo, mayor sensibilidad emocional, fuerte sensación de bienestar y energía, sentimientos de mayor cercanía con otros, mayor empatía, extraversión, sociabilidad y confianza, disminución de la agresión, euforia, refuerzo, mayor conciencia sensorial, alteración del pensamiento, alteración en la percepción del tiempo y del espacio y alteraciones de la percepción sensorial, especialmente en la percepción de los colores y del tacto, aunque sin llegar a producirse auténticas alucinaciones (Davison y Parrot, 1997; Vollenweider y cols., 1998; Camí y cols., 2000; Liechti y cols., 2000a; Cole y Sumnall, 2003; Tancer y Johanson, 2003, 2007; de la Torre y cols., 2004; Kolbrich y cols., 2008; Bedi y cols., 2009; Dumont y cols., 2010, 2011; Kirkpatrick y cols., 2011).

La 5-HT y el SERT están implicados en algunos efectos subjetivos del éxtasis, ya que la administración de citalopram o paroxetina (ISRSs), reduce algunos efectos como el estado de ánimo positivo, la extroversión, confianza en uno mismo, desrealización y despersonalización, o las alteraciones sensoriales, aunque no reduce otros efectos como los incrementos en la excitabilidad y sensibilidad emocional (Liechti y cols., 2000a; Liechti y Vollenweider, 2001; Farré y cols., 2007). Otro dato que apoya la participación del sistema serotoninérgico en los efectos subjetivos de la MDMA es la similitud de sus efectos con los producidos por la administración de metaclorofenilpiperazina (mCPP), un compuesto liberador de 5-HT, aunque puede que estos efectos no tengan un papel importante en el mantenimiento del consumo, ya que éste fármaco no funciona como un reforzador (Tancer y Johanson, 2003).

Actualmente existe un consenso general en el mecanismo molecular de las acciones de los alucinógenos, estando estos efectos mediados principalmente por la estimulación del receptor 5-HT_{2A} (Nichols, 2004). De acuerdo con esto, las alteraciones perceptivas de la MDMA se reducen con la administración de

ketanserina (un antagonista 5-HT_{2A}) (Liechti y cols., 2000b; Liechti y Vollenweider, 2001) o fluoxetina (Tancer y Johanson, 2007). Sin embargo, el bloqueo de los receptores 5-HT_{1A} no modifica de forma sustancial los efectos subjetivos de la MDMA (Hasler y cols., 2009). Por su parte, el estado de ánimo positivo y la euforia inducida por MDMA se reduce mediante la administración de haloperidol (Liechti y Vollenweider, 2000b, 2001) o de paroxetina (Farré y cols., 2007). Así, parece que los efectos subjetivos de la MDMA dependen principalmente de la liberación de 5-HT, mientras que los efectos estimulantes y eufóricos dependerían de la tanto de la liberación de 5-HT como de la activación de los receptores D₂; por su parte, las alteraciones perceptivas estarían relacionadas con la actividad en los receptores 5-HT_{2A} (Liechti y Vollenweider, 2001; Farré y cols., 2007). El transportador de NA también está implicado en los efectos psicológicos de la MDMA, ya que la reboxetina, un inhibidor de la recaptación de NA reduce los efectos subjetivos, la estimulación y la excitación emocional producidos por la MDMA (Hysek y cols., 2011).

La intención con la que los individuos consumen MDMA también influye en sus efectos, así las personas que la consumen por razones “espirituales” informan con mayor frecuencia de efectos relacionados con una mayor capacidad de comprensión y reflexión, mientras que las personas que consumen MDMA para acudir a fiestas “rave” o a bailar informan en mayor medida de efectos estimulantes relacionados con el movimiento, los que lo consumen para estar más sociables informan de más efectos prosociales como gregarismo, empatía o disminución de las defensas interpersonales; y los que lo consumen para potenciar las relaciones sexuales, informan más frecuentemente de efectos relacionados con la sexualidad. Además los consumidores que aducen motivos espirituales o una motivación por sentir mayor cercanía con la naturaleza informan de menos efectos negativos que los sujetos que consumen para acudir a fiestas o para ser más sociables. Los efectos perceptivos tienen más peso en las personas que consumen MDMA para bailar o escuchar música, pero no en las personas que la consumen para socializar, durante la psicoterapia, o en otras actividades no directamente asociadas con discotecas o “raves”, posiblemente por diferencias en las expectativas y en el contexto con la música a todo volumen y los juegos de luces (Watson y Beck, 1991; Sumnall y cols.,

2006). Además, los efectos psicoactivos de la MDMA están influidos por el sexo, mostrando las mujeres más alteraciones perceptivas y del pensamiento y mayor temor a perder el control (Liechti y cols., 2001).

Como se ha comentado en el apartado sobre la historia de la MDMA, antes de que se popularizara su consumo recreacional, la MDMA fue utilizada por los psicoterapeutas de la costa oeste de EEUU, quienes la emplearon como alternativa al LSD cuando éste fue prohibido. Cuando se administra a personas sanas bajo supervisión médica, la MDMA induce un estado mental que normalmente es placentero, prácticamente en todas las ocasiones, excepto por un cierto desarrollo de tolerancia (Sessa y Nutt, 2007). La MDMA produce efectos como mayor capacidad de comprensión, cercanía, apertura, empatía, mayor conciencia de los sentimientos y disminución del miedo (Liester y cols., 1992; Sumnall y cols., 2006), fomenta la contemplación y la reflexión (Vollenweider y cols., 1998) potencia la autocomprensión, autoconfianza y autoaceptación, y los usuarios señalan su utilidad para su crecimiento personal y espiritual (Greer y Tolbert, 1986). Así, algunos autores proponen su uso como complemento a la psicoterapia en el tratamiento de trastornos como la depresión, el trastorno por estrés postraumático, ansiedad en los últimos estadios del cáncer o incluso esquizofrenia, o como tratamiento farmacológico de la depresión antes de que tenga efecto un ISRS u otro tipo de antidepresivo (Holland, 2001; Sessa, 2006; Sessa y Nutt, 2007; Bouso y cols., 2008; Johansen y Krebs, 2009; Mithoefer y cols., 2011). Sin embargo, su empleo como agente terapéutico es controvertido, ya que existen algunos aspectos que dificultarían su uso. La MDMA puede intensificar pensamientos y sentimientos tanto positivos como negativos, y estos pensamientos y sentimientos pueden ser susceptibles a factores ambientales, pudiendo ser las expectativas más cruciales que el propio fármaco. Después del consumo hay un periodo de recuperación neuroquímica, durante el cual los afectos y pensamientos negativos predominan, pudiendo ser terapéuticamente contraproducente. Además, no sería admisible administrar un fármaco como la MDMA a individuos psiquiátricamente vulnerables por las secuelas que el tratamiento pudiera provocarles (Parrot, 2007).

Los efectos psicológicos adversos por el consumo de MDMA incluyen disforia, irritabilidad, deterioro de memoria y atención, despersonalización y desrealización,

insomnio, agitación, ansiedad, confusión, miedo, ataques de pánico, alucinaciones visuales, delirios paranoides e ideación suicida (Davison y Parrot, 1997; Vollenweider y cols., 1998; Camí y cols., 2000; Cole y Sumnall, 2003; de la Torre y cols., 2004; Kuypers y Ramaekers, 2005, 2007; Kuypers y cols., 2007; Capela y cols., 2009). Estos efectos generalmente se resuelven rápidamente cuando finaliza el efecto de la droga. La “resaca” después del consumo de MDMA, a veces denominada como “el miércoles triste”, incluye síntomas psicológicos como irritabilidad, ansiedad y disforia, melancolía, agresividad, alteraciones del sueño, fatiga, problemas de memoria y concentración y puede durar entre uno y siete días (Curran y Travill, 1997; Parrot y Lasky, 1998; Liechti y Vollenweider, 2000a; Verheyden y cols., 2003; Curran y cols., 2004; Kuypers y Ramaekers, 2005; Sessa y Nutt, 2007; Capela y cols., 2009). Los efectos adversos durante la semana posterior al consumo de MDMA pueden exacerbarse por las circunstancias que habitualmente acompañan al consumo recreativo, como privación de sueño, ejercicio físico intenso y consumo de otras drogas (Sessa y Nutt, 2007). De hecho, algunos usuarios de éxtasis han informado de delirios paranoides que pueden persistir días o semanas (Davison y Parrott, 1997). Sin embargo, algunos estudios sugieren que cuando se administra MDMA en su forma pura en situación controlada de laboratorio o en contexto terapéutico, también pueden observarse algunos signos de “resaca” lo cual podría reducir su efectividad como agente terapéutico (Greer y Tolbert, 1986; Liechti y cols., 2001; Parrot, 2007).

Las mujeres parecen más susceptibles a estos síntomas, mostrando media semana después del consumo de MDMA mayores síntomas de depresión (Verheyden y cols., 2002), y se ha propuesto que la vulnerabilidad a los efectos adversos podría ser mayor en sujetos que han consumido MDMA durante largos periodos de tiempo (Gouzoulis-Mayfrank y cols., 2000) o en sujetos con vulnerabilidad psiquiátrica como haber experimentado una depresión anteriormente (Parrot, 2006). Los consumidores que bailan de forma prolongada bajo los efectos del éxtasis informan de más problemas de memoria, depresión y concentración que los que bailan de forma menos intensiva. Además, tener más sensación de calor bajo los efectos del éxtasis se asocia con problemas de concentración y con fluctuaciones del estado de ánimo (Parrot y cols., 2006). En cuanto a los mecanismos neuroquímicos, estos efectos podrían estar regulados, al menos en parte por el sistema serotoninérgico, como

consecuencia del déficit de 5-HT tras la liberación excesiva (Curran y Travill, 1997; Meneses, 1999; Kish y cols., 2000; Liechti y Vollenweider, 2000a; Curran y cols., 2004).

3.3.2.2. Efectos fisiológicos.

Los efectos periféricos de la MDMA en dosis orales similares a las que habitualmente se consumen con fines recreativos (entre 50 y 150 mg) incluyen síntomas como un incremento de la energía que conduce a mayor actividad física, incrementos en la presión arterial y tasa cardíaca, taquicardia, palpitaciones, hipertermia, náuseas, sudoración, midriasis e hiperreflexia (Cohen y Cocores, 1997; Vollenweider y cols., 1998; Camí y cols., 2000; Liechti y cols., 2000a; Liechti y Vollenweider, 2000a; Tancer y Johanson, 2003, 2007; de la Torre y cols., 2004; Freedman y cols., 2005; Farré y cols., 2007; Kolbrich y cols., 2008; Kirkpatrick y cols., 2011). Al presentar la MDMA una farmacocinética no lineal, una segunda administración de una dosis produce efectos farmacológicos más pronunciados en la presión sanguínea, tasa cardíaca, concentración de cortisol y efectos subjetivos, mientras que otros efectos como los cambios en el diámetro pupilar, la tensión muscular extraocular o las concentraciones de prolactina no se afectan por la segunda administración de MDMA (Farré y cols., 2004). Los efectos fisiológicos de la MDMA están en parte mediados por su interacción con los transportadores de 5-HT y NA, ya que el citalopram y la reboxetina atenúan sus efectos cardiovasculares (Liechti y Vollenweider, 2000a, 2001; Hysek y cols., 2011).

La hipertermia representa un aspecto clínicamente relevante, ya que la temperatura corporal puede alcanzar los 43°C, con consecuencias potencialmente fatales (Mallick y Bodenham, 1997; Connolly y O'Callaghan, 1999; Irvine y cols., 2005). La hipertermia y las reacciones adversas por consumo de MDMA probablemente están potenciadas por las condiciones ambientales de las "raves" y los clubs en los que habitualmente se consume la droga (Cole y Sumnall, 2003). El consumo en ambientes concurridos, con elevada temperatura ambiente, la intensa actividad física y la deshidratación puede contribuir a la respuesta de hipertermia. En condiciones

controladas de laboratorio, la administración de MDMA a voluntarios incrementa moderadamente la temperatura, observándose un incremento que no excede de 0.5°C (Vollenweider y cols., 1998; Liechti y Vollenweider, 2000). Sin embargo, al contrario de lo que sucede en roedores, tanto en humanos como en macacos Rhesus, la MDMA produce un incremento en la temperatura corporal a diferentes temperaturas ambiente (Freedman y cols., 2005; Von Huben y cols., 2006).

Debido a las complicaciones derivadas de la hipertermia, que pueden llegar a ser fatales, se suele recomendar de forma preventiva el consumo de bebidas refrescantes isotónicas, ya que el consumo excesivo de agua junto con la secreción inapropiada de hormona antidiurética, inducida por la MDMA, puede conducir a una hiponatremia (disminución del nivel de sodio), una complicación poco común pero peligrosa (Cole y Sumnall, 2003)

Los mecanismos que controlan la hipertermia inducida por MDMA también han sido estudiados en humanos. Un pretratamiento con ketanserina, un antagonista 5-HT₂, atenúa la hipertermia inducida por MDMA, mientras que un pretratamiento con citalopram, un ISRS, no la modifica (Liechti y cols., 2000b; Liechti y Vollenweider, 2000a). La hipertermia inducida por la MDMA puede verse influida por el metabolismo de la droga; así, de la Torre y cols. (2005) encontraron ligeros incrementos en la temperatura de sujetos con un metabolismo normal de la MDMA, mientras que un sujeto con un metabolismo deficiente de la droga mostró una considerable respuesta hipertérmica.

Entre uno y siete días después del consumo de MDMA, aparecen síntomas como fatiga, boca seca, pérdida de apetito, piernas pesadas, insomnio, somnolencia, falta de energía, debilidad, tensión muscular y dolores de cabeza (Liechti y Vollenweider, 2000a).

- Efectos neuroendocrinos.

La MDMA incrementa los niveles plasmáticos de hormona adrenocorticotropa (ACTH), cortisol, prolactina, oxitocina y hormona antidiurética, junto con un descenso

en las concentraciones de sodio (Henry y cols., 1998; Camí y cols., 2000; Tancer y Johanson, 2003; Wolff y cols., 2006; Dumont y cols., 2010). Además, el contexto en el que habitualmente se consume éxtasis, como una “rave” o una discoteca, puede producir efectos fisiológicos similares; la experiencia de escuchar música “techno” incrementa la tasa cardíaca, la presión sanguínea sistólica y los niveles plasmáticos de NA, adrenalina, prolactina, cortisol, hormona del crecimiento, ACTH y β -endorfina, en comparación con la experiencia de escuchar música clásica, por lo que los efectos de esta música puede tener efectos sinérgicos con los de la MDMA (Gerra y cols., 1998). Escuchar música “rápida” altera la respuesta de glucocorticoides al ejercicio, incrementa la resistencia y mejora el estado de ánimo en sujetos no entrenados, lo que podría explicar la preferencia por este tipo de música y a todo volumen en “raves” y discotecas (Brownley y cols., 1995). Así, es probable que la música de los sitios en los que habitualmente se consume el éxtasis pueda contribuir a los efectos observados en humanos.

- Efectos inmunológicos.

Dado que muchos de los cambios fisiológicos provocados por la MDMA recuerdan a los producidos por el estrés, se ha descrito el efecto inmunosupresor de la MDMA como un “estresor químico” para el sistema inmune (Connor, 2004). La administración de dosis repetidas de MDMA a voluntarios da lugar a cambios rápidos y sostenidos en diferentes parámetros indicativos de inmunosupresión, como un descenso en los linfocitos T circulantes, en las células CD4 (con un descenso consecuente en el ratio CD4/CD8) o el incremento simultáneo en las células NK (Pacifci y cols., 2001). Parece que tras el consumo de MDMA hay un periodo crítico en el que la inmunocompetencia está altamente comprometida. Aunque tras la administración de una dosis de 100 mg la función inmunitaria se recupera a las 24 horas, si estos efectos se repiten con frecuencia es posible que se altere la respuesta inmune. Además, el ambiente de los estudios de laboratorio es muy diferente del asociado al consumo recreacional de MDMA donde las condiciones de ambientes concurridos, actividad física sin control, ingesta de alimentos y bebidas y asociación con otras drogas podría potenciar la inmunosupresión inducida por la MDMA, por lo

que los consumidores de esta droga tendrían una mayor susceptibilidad a infecciones y trastornos inmunes (Connor, 2004; Pacifici y cols., 2001). Además, el consumo de MDMA se asocia fuertemente con conductas sexuales de alto riesgo, lo cual, junto con la inmunosupresión, incrementaría la susceptibilidad de los consumidores de MDMA a las enfermedades de transmisión sexual (Klitzman y cols., 2000).

- Efectos tóxicos.

Las complicaciones por el consumo de MDMA son impredecibles y no parecen depender de la dosis ingerida o del número de exposiciones a la droga (Milroy, 1999). Los efectos adversos inmediatos de la MDMA oscilan desde síntomas menores hasta síntomas potencialmente amenazantes para la vida. Los efectos adversos incluyen mareos, náuseas, vómitos, trismo, bruxismo, hipertensión, palpitaciones, dolores de cabeza, hiperreflexia, ataxia, pérdida de equilibrio, urgencia urinaria, dolor y tensión muscular, midriasis que provoca dificultades visuales, nistagmo, boca seca y sudoración (Henry, 1992; Davison y Parrott, 1997; Liechti y cols., 2005; Dinis-Oliveira y cols., 2010). Otros efectos fisiológicos durante las primeras horas tras el consumo de MDMA incluyen taquicardia, coagulopatía, fatiga, insomnio, confusión, temblores, trombocitopenia, acidosis, hipoglucemia, congestión pulmonar, edema, hepatitis, síndrome serotoninérgico (rigidez muscular, hiperreflexia e hipertermia) o hemorragia intracraneal (Cole y Sumnall, 2003, de la Torre y cols., 2004; Hall y Henry, 2006).

- Intoxicación letal de MDMA.

Aunque las complicaciones por el consumo de MDMA no son frecuentes, cuando se producen, éstas pueden ser fatales (Nutt, 2005). La reacción adversa más prominente es la hipertermia fulminante, produciéndose temperaturas corporales por encima de los 42°C, que habitualmente precede a la coagulación intravascular diseminada, rabdomiólisis (síndrome causado por daños en el músculo esquelético

por el que se libera el contenido de las células musculares en el plasma), fallo orgánico múltiple y fallo renal agudo (Hall y Henry, 2006). La mayoría de las reacciones adversas con temperaturas por encima de los 42°C resultan fatales (Mallick y Bodenham, 1997; Connolly y O'Callaghan, 1999; Milroy, 1999; Cole y Sumnall, 2003; Capela y cols., 2009). Las complicaciones letales relacionadas con MDMA son secundarias a alteraciones cardíacas, neurológicas o a fallo orgánico múltiple (Henry, 1992; Connolly y O'Callaghan, 1999; Liechi y cols., 2005; Hall y Henry, 2006).

3.4. Efectos a largo plazo.

3.4.1. Efectos en animales de laboratorio.

3.4.1.1. Efecto neurotóxico de la MDMA.

La administración de dosis únicas o múltiples de MDMA en ratas, ratones o primates no humanos produce neurotoxicidad en los sistemas serotoninérgico y/o dopaminérgico, predominantemente en las neuronas serotoninérgicas (Capela y cols., 2009).

En el año 1985 se informó que la MDA, un metabolito de MDMA y también una droga consumida por humanos, resultaba neurotóxica para las neuronas serotoninérgicas de las ratas (Ricaurte y cols., 1985). Al año siguiente se confirma que la MDMA es neurotóxica para las neuronas serotoninérgicas en ratas (Schmidt y cols., 1986), y en la actualidad existen cientos de trabajos relacionados con los efectos neurotóxicos de la MDMA. La mayoría de los estudios sobre la neurotoxicidad provocada por MDMA se realizan en ratas, aunque también existen informes sobre la depleción serotoninérgica y el daño neuronal tras la administración de MDMA en otras especies, principalmente en primates no humanos (Ricaurte y cols., 1988, 1992; Slikker y cols., 1988; Insel y cols., 1989; Ali y cols, 1993; Fischer y cols., 1995; Hatzidimitriou y cols., 1999; Bowyer y cols., 2003). Los primates parecen muy susceptibles a estos efectos, observándose marcadores de déficit en el sistema serotoninérgico con dosis mucho menores a las empleadas en rata o ratón,

por ejemplo, 2.5 mg/kg x 2 x 4 días, o una única dosis de 5 mg/kg (Ricaurte y cols., 1988; Insel y cols., 1989). Hay que señalar que las concentraciones plasmáticas de MDMA que son capaces de producir efectos neurotóxicos en monos ardilla son similares a las alcanzadas por consumidores recreacionales de éxtasis y son dos veces mayores a las encontradas en humanos a los que se les ha administrado una única dosis de 100 a 150 mg de MDMA en condiciones controladas (Mechan y cols., 2006).

De forma similar, diferentes cepas de ratas difieren en su sensibilidad a los efectos neurotóxicos de la MDMA, probablemente debido a diferencias en su metabolismo de la droga. Por ejemplo, la cepa Dark Agouti requiere una única dosis de 10 mg/kg de MDMA para que se produzca un descenso del 40% en el contenido cerebral de 5-HT (Colado y Green, 1995), mientras que se requiere de al menos 20 mg/kg para producir una pérdida similar en ratas Sprague-Dawley, Hooded Lister o Wistar (Colado y cols., 1993; Aguirre y cols., 1998; Shankaran y cols., 1999). Además, se ha observado que la forma S(+)-MDMA es más neurotóxica que la forma R(-)-MDMA (Johnson y cols., 1988), y en primates no humanos se ha determinado que la vía de administración también puede afectar a los efectos neurotóxicos, de forma que la administración oral parece menos neurotóxica que la administración subcutánea (Ricaurte y cols., 1988). Otros factores como la dosis empleada, la experiencia previa con la droga o la frecuencia de administraciones influyen también en las consecuencias perjudiciales de la MDMA (O'Shea y cols., 1998; Shankaran y Gudelsky, 1999; Green y cols., 2004).

La mayoría de los estudios en ratas evalúan el descenso en los marcadores bioquímicos de las neuronas serotoninérgicas para determinar el grado de neurotoxicidad (Capela y cols., 2009). Se han observado reducciones a largo plazo en marcadores bioquímicos del sistema serotoninérgico, como un descenso en los niveles de 5-HT o su principal metabolito, el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), un menor número de sitios de unión para el SERT, de algunos receptores serotoninérgicos como los 5-HT_{1B} y los 5-HT_{2A/2C} o descensos a largo plazo en la actividad de la triptófano hidroxilasa (TPH), la enzima limitante de la síntesis de 5-HT. Las regiones en las que se producen estos descensos de forma más pronunciada son la corteza, estriado e hipocampo (Stone y cols., 1986; Schmidt y Taylor, 1987;

Colado y Green, 1995; Colado y cols., 1998; 1999a; O'Shea y cols., 1998, 2006; Sánchez y cols., 2001; Gurtman y cols., 2002; McGregor y cols., 2003a, 2003b; Thompson y cols., 2004; Perrine y cols., 2010). Con respecto a la determinación del SERT mediante Western Blot, algunos trabajos han cuestionado el potencial neurotóxico de la MDMA y otros compuestos anfetamínicos relacionados, al no haber encontrado disminuciones en este parámetro (Rothman y cols., 2003, 2004; Wang y cols., 2004, 2005; Baumann y cols., 2007; Kivell y cols., 2010); sin embargo, recientemente McLane y cols. (2011) han señalado que la ausencia de alteraciones en este parámetro puede deberse a un error en la identificación de la banda que corresponde al SERT. En diferentes trabajos en los que se cuantifica la abundancia del SERT mediante Western Blot, se identifica la banda en ubicaciones correspondientes a proteínas de entre 50 y 200 kDa, ya que puede tratarse de fragmentos o agregados del SERT debido a diferentes transformaciones que éste pueda haber sufrido. Estos autores realizaron análisis en tejido cerebral de ratas tratadas previamente con MDMA, fenfluramina y p-cloroanfetamina y observaron menor intensidad de señal en una banda difusa situada entre 63 y 68 kDa que fue identificada con el SERT empleando controles positivos y negativos, sin hallar alteraciones en la banda presente a 50 kDa, la cual era más definida y emitía una señal más intensa por lo que previamente había sido identificada en otros trabajos como correspondiente al SERT.

El descenso en los niveles de 5-HT tras una administración de 10 mg/kg de MDMA fluctúa en el tiempo. Así, Schmidt (1987) observó como en las primeras horas los niveles de 5-HT disminuyen de forma drástica, para recuperarse durante el primer día posterior a la administración. Sin embargo, posteriormente se produce un descenso gradual durante la semana siguiente a la administración. Estas alteraciones pueden persistir durante meses o incluso años tras la administración de la droga (Battaglia y cols., 1988; Fischer y cols., 1995; Hatzidimitriou, 1999). Aunque puede haber una cierta recuperación de estos marcadores entre 6 meses y un año después del tratamiento con MDMA, la recuperación no se produce completamente en todas las áreas cerebrales (Battaglia y cols., 1988; Scanzello y cols., 1993; Fischer y cols., 1995; Lew y cols., 1996; Sabol y cols., 1996; Kovács y cols., 2007).

El daño producido por la MDMA ocurre principalmente en forma de axotomía de las fibras serotoninérgicas, con una pérdida total o parcial de dendritas, sin afectar a los cuerpos celulares, lo que se conoce como "efecto poda" (Molliver y cols., 1990; Hatzidimitriou y cols., 1999; Xie y cols., 2006; Capela y cols., 2008). Sin embargo, el hecho de que los marcadores bioquímicos del sistema serotoninérgico estén reducidos tras la administración de MDMA no implica necesariamente que haya habido neurodegeneración. Solo se puede afirmar de forma definitiva este daño neurotóxico mediante el análisis histológico del cerebro de animales a los que se ha administrado MDMA (Capela y cols., 2009). Así, varios estudios han demostrado, mediante análisis histoquímicos y/o inmunohistoquímicos que la MDMA causa neurodegeneración a largo plazo en el cerebro de la rata (Commins y cols., 1987; O'Hearn y cols., 1988; Xie y cols., 2006; Capela y cols., 2008). Dado que las observaciones histológicas concuerdan con las bioquímicas, se asume la legitimidad del empleo de los parámetros bioquímicos para evaluar la neurotoxicidad serotoninérgica inducida por MDMA (Capela y cols., 2009). A este respecto, O'Shea y cols. (2006) señalan que el análisis de los niveles de 5-HT podría sobreestimar el daño producido por la MDMA, ya que este dato estaría afectado por la inhibición de la triptófano hidroxilasa, y que probablemente la determinación del SERT sería un mejor indicador de los daños a largo plazo.

Sin embargo, algunos autores interpretan los descensos en los marcadores serotoninérgicos no como indicadores de neurotoxicidad, sino como signo de neuroadaptaciones cerebrales (Schmidt y Taylor, 1987; Stone y cols., 1987b; Kovács y cols., 2007; Wang y cols., 2004, 2005; Baumann y cols., 2007). Como la MDMA disminuye la actividad de la triptófano hidroxilasa (Schmidt y Taylor, 1987; Stone y cols., 1987b) los efectos sobre los niveles de 5-HT y 5-HIAA podrían deberse a una alteración en la síntesis del neurotransmisor y no al daño en los terminales serotoninérgicos (Stone y cols., 1987b). A este respecto, Wang y cols., (2007) señalan la existencia de 3 modelos explicativos posibles sobre los efectos de la MDMA en los terminales serotoninérgicos. 1) El modelo neuroadaptativo sostiene que las terminales no estarían dañadas, pero las reservas vesiculares de serotonina estarían agotadas por la inhibición de su síntesis. 2) El modelo neurotóxico mantiene que parte de las terminales estarían destruidas y las intactas mantendrían su

funcionamiento. 3) El modelo mixto propone que parte de las terminales están dañadas, y las que no lo están tendrían una pobre reserva vesicular de 5-HT.

Cuando se estudia la recuperación del daño producido por la MDMA se observan patrones de reinervación anormales, con algunas áreas proximales como la amígdala o el hipotálamo hiperinervadas, mientras que regiones distales como la corteza permanecen sin inervación (Fischer y cols., 1995). La persistencia de estos efectos puede depender de factores como la dosis o el patrón de administración empleado, el área cerebral estudiada o la especie o cepa empleadas (Ricaurte y McCann, 1992; Scanzello y cols., 1993; Fischer y cols., 1995; Hatzidimitriou y cols., 1999). Así, mientras que en ratas los indicadores de déficit serotoninérgico se recuperan casi por completo a las 32 semanas del tratamiento con MDMA (Scanzello y cols., 1993), en el caso de los primates no humanos, se ha podido observar en monos ardilla un patrón de reinervación fuertemente anormal 18 meses después del tratamiento con MDMA (Fischer y cols., 1995), e incluso una reducida inervación serotoninérgica y menores niveles de 5-HT, siete años después de la exposición a la droga (Hatzidimitriou y cols., 1999).

Como consecuencia del daño neuronal puede ocurrir la hipertrofia de los astrocitos o "gliosis reactiva" y conducir así a una mayor expresión de proteínas estructurales específicas de la glía como la proteína ácida fibrilar glial (GFAP). La expresión de esta proteína puede detectarse mediante análisis inmunohistoquímicos de cortes cerebrales y emplearse como marcador de daño neuronal. Sin embargo, los datos referentes a la activación glial tras la administración de regímenes neurotóxicos de MDMA no son consistentes (Capela y cols., 2009). Algunos estudios informan de un incremento en la expresión de GFAP en ratas (Aguirre y cols., 1999; Pubill y cols., 2003; Ádori y cols., 2006) y ratones (O'Callaghan y Miller, 1994; Johnson y cols., 2004; Thomas y cols., 2004; Granado y cols., 2008, 2011), mientras que otros no observan este efecto (Pubill y cols., 2003; Orio y cols., 2004; Wang y cols., 2004; Straiko y cols., 2007); por lo que el empleo de este parámetro para detectar degeneración de los terminales serotoninérgicos podría tener limitaciones (Bendotti y cols., 1994).

La magnitud de los daños a largo plazo inducidos por la MDMA parece estar muy relacionada con la magnitud de la respuesta de hipertermia (Malberg y Seiden, 1998). A baja temperatura ambiente se previene o atenúa tanto la hipertermia como la neurotoxicidad inducida por MDMA (Broening y cols., 1995; Malberg y Seiden, 1998), mientras que a elevada temperatura ambiente, estas respuestas se potencian (Broening y cols., 1995; Sánchez y cols., 2004). Algunos fármacos como los antagonistas de los receptores NMDA, el clometiazol, la pentobarbitona y el haloperidol previenen los efectos neurotóxicos de la MDMA provocando un efecto de hipotermia (Colado y cols., 1998; 1999a; 1999b, 1999c). De forma similar, aunque se propuso que el exceso de DA podría captarse en las terminales serotoninérgicas y una vez allí incrementar las especies reactivas de oxígeno (Sprague y Nichols, 1995), parece que el efecto de la DA también está mediado por los efectos sobre la temperatura corporal, ya que cuando se revierte la hipotermia, la reserpina y la alfa-metil-p-tirosina no ejercen efecto protector al agotar las reservas vesiculares y citoplasmáticas de DA (Yuan y cols., 2002). Sin embargo, es posible observar neurotoxicidad en ausencia de hipertermia (O'Shea y cols., 1998), y el (S)-(-)-AR-A008055, un compuesto estructuralmente relacionado con el clometiazol (agonista de los receptores GABA) previene los efectos neurotóxicos de la MDMA de forma independiente de sus efectos sobre la temperatura (Colado y cols., 2001). En este sentido, aunque la administración de etanol puede reducir la respuesta hipertérmica en ratones tratados con MDMA, el alcohol incrementa las alteraciones dopaminérgicas causadas por la MDMA (Rodríguez-Arias y cols., 2011). Así, aunque la hipertermia es uno de los factores más estrechamente relacionados con la neurotoxicidad inducida por MDMA, otros factores como el metabolismo de la dopamina y la serotonina, la formación de radicales libres, la generación de óxido nítrico, excitotoxicidad por glutamato, procesos inflamatorios con activación glial y liberación de citocinas proinflamatorias, estimulación de los receptores 5-HT_{2A}, o la formación de metabolitos neurotóxicos, pueden también influir en la aparición de neurotoxicidad (Sarkar y Schmued, 2010).

El incremento en la producción de radicales libres, probablemente como consecuencia de la degradación de ciertos metabolitos de la MDMA parece un mecanismo importante en la mediación de los efectos neurotóxicos de la MDMA en

el cerebro de la rata (Colado y cols., 1997; Esteban y cols., 2001). La formación de radicales libres clarifica en cierta medida el papel que juega la temperatura en los procesos neurodegenerativos, ya que la formación de radicales libres en el cerebro tras la administración de MDMA se incrementa en animales hipertérmicos (Colado y cols., 1997), y disminuye descendiendo la temperatura corporal (Kil y cols., 1996).

La formación de ácido 2,3-dihidroxibenzoico (2,3-DHBA) ocurre en presencia de altas concentraciones de radicales libres por lo que su presencia es un indicador fiable de la formación de radicales libres (Shankaran y cols., 1999a; Colado y cols., 1997; 1999a; 2001; Camarero y cols., 2002). Se ha observado que la administración de fluoxetina reduce el descenso de 5-HT producido por MDMA así como la formación de 2,3-DHBA (Shankaran y cols., 1999a). Este efecto neuroprotector de la fluoxetina podría deberse a que ésta o alguno de sus metabolitos, como la norfluoxetina, impiden la entrada de MDMA o de algún metabolito neurotóxico al interior del terminal presináptico (Sánchez y cols., 2001). Además, la estimulación directa de los receptores 5-HT_{2A} induce estrés oxidativo celular, conduciendo a la apoptosis (Capela y cols., 2007).

Por contra a lo observado en ratas y primates no humanos, el ratón constituye una excepción en cuanto al patrón de neurotoxicidad inducida por MDMA. En los ratones la MDMA produce neurotoxicidad dopaminérgica en lugar de serotoninérgica, induciendo depleción de DA y sus metabolitos en varias regiones cerebrales junto con reducción en la densidad del DAT, aunque produce especialmente degeneración a largo plazo de los terminales dopaminérgicos estriatales (O'Callaghan y Miller, 1994; Taraska y Finnegan, 1997; Johnson y cols., 2000, 2004; Fornai y cols., 2001; Colado y cols., 2001; O'Shea y cols., 2001; Green y cols., 2003; Lyles y Cadet, 2003; Cole y Sumnal, 2003b; Daza-Losada y cols., 2007, 2008; Gudelsky y Yamamoto, 2008; Fantegrossi y cols., 2008; Granado y cols., 2008, 2011; Rodríguez-Arias y cols., 2011). En las ratas la neurotoxicidad dopaminérgica se ha observado sólo de forma excepcional tras la administración repetida de altas dosis de MDMA, o en condiciones de elevada temperatura (Commins y cols., 1987; Yuan y cols., 2002). Los tratamientos empleados en estos estudios habitualmente se sitúan entre una única administración de 15 mg/kg y cuatro administraciones de 20 mg/kg

cada 2 horas. Los efectos neurotóxicos dopaminérgicos de la MDMA en ratones están modulados por la cepa empleada. Así, los ratones CBA son más sensibles a estos efectos que los de las cepas BALB/C o C57BL/6 (Zheng y Laverty, 1993). En función del régimen de MDMA y de la cepa de ratones empleada, también puede producirse una neurotoxicidad dual DA/5-HT (Zheng y Laverty, 1993; Fornai y cols., 2001, 2004; Itzhak y cols., 2003). Por ejemplo, ratones que recibieron 50 mg/kg x 2 con 2 horas entre administraciones, presentaron una semana después del tratamiento depleción de DA y 5-HT en corteza frontal, hipocampo, estriado y sustancia negra (Fornai y cols., 2001). Un régimen neurotóxico de MDMA (15 mg/kg x 2 al día, 8 horas entre dosis, durante dos días) en ratones Swiss-Webster provocó una pronunciada depleción de DA estriatal y de los sitios de unión al DAT, así como depleción de 5-HT en estriado e hipocampo junto con una reducción de los sitios de unión al SERT en la corteza frontal. En este caso se observó que la depleción estriatal de DA y el descenso en los lugares de unión al SERT se mantuvieron 83 días después de la exposición a MDMA (Itzhak y cols., 2003).

Además, en ratones se han observado indicios de neurotoxicidad en neuronas de otros tipos, por ejemplo se ha observado degeneración de neuronas estriatales gabaérgicas en ratones tratados con 30 mg/kg x 3, con un intervalo de dos horas entre dosis (Fornai y cols., 2002, 2003). Las alteraciones inducidas por la MDMA van más allá de los terminales axónicos y pueden implicar cambios en los cuerpos celulares de las neuronas (Revisar Fornai y cols., 2004; Frenzilli y cols., 2007). Posiblemente diferencias en los procesos metabólicos de las distintas especies y cepas contribuyan a explicar las diferencias observadas en los patrones de neurotoxicidad producida por la MDMA (Capela y cols., 2009). Así, se propone que en ratones, en los que la MDMA predomina en los tejidos tras su administración, la neurotoxicidad estaría mediada principalmente por la DA; la MDMA provoca la liberación de DA, la cual al oxidarse conduce a la generación de especies reactivas de oxígeno, que son las que provocarían la toxicidad (de la Torre y Farré., 2004). Las ratas tendrían una mayor capacidad antioxidante, por lo que serían menos susceptibles a los procesos de estrés oxidativo causado por la MDMA (Granado y cols., 2008). En otras especies animales, incluyendo a los seres humanos, el

metabolismo hepático tendría un papel fundamental en la neurotoxicidad causada por la MDMA (de la Torre y Farré., 2004).

La neurotoxicidad dopaminérgica observada en ratones Swiss Webster no se previene mediante la administración de fluoxetina (O'Shea y cols., 2001). Sin embargo, el GBR 12909, un inhibidor de la recaptación de DA, protege del efecto neurotóxico dopaminérgico sin impedir la liberación de DA, disminuyendo la formación de 2,3-DHBA (O'Shea y cols., 2001; Camarero y cols., 2002). Es posible que el GBR 12909 disminuya la formación de radicales libres bloqueando al DAT, y así impidiendo la entrada de algún metabolito neurotóxico en el interior de la terminal dopaminérgica, ya que por sí mismo no tiene efecto en la formación de radicales libres (Camarero y cols., 2002).

Además, la minociclina, un fármaco con propiedades anti-inflamatorias y neuroprotectoras atenúa los efectos neurotóxicos en el sistema dopaminérgico, serotoninérgico y la activación glial producidos por la MDMA en ratones (Zhang y cols., 2006).

3.4.1.2. Otros efectos fisiológicos.

Así como la temperatura afecta a los efectos neurotóxicos de la MDMA, la neurotoxicidad altera los mecanismos de termorregulación a largo plazo. Las ratas expuestas previamente a un tratamiento neurotóxico de MDMA presentan alteraciones en la termoregulación 4 o 6 semanas después, lo cual puede ser consecuencia del déficit serotoninérgico (Dafters y Lynch, 1998; Mehan y cols., 2001; Piper y cols., 2005; Jaehne y cols., 2008;).

Además, la exposición a la MDMA durante el desarrollo intrauterino y la lactancia puede retrasar el desarrollo puberal y alterar la calidad del esperma, ya que la descendencia de ratas tratadas de forma intermitente durante 10 semanas, incluyendo el periodo de gestación y lactancia mostró una incidencia mayor de daño en el ADN del esperma, edema intersticial en los testículos, un descenso en el

recuento de espermatozoides y una menor motilidad de los mismos (Barenys y cols., 2010).

3.4.1.3. Efectos conductuales.

- Actividad motora.

Los diferentes trabajos sobre los efectos a largo plazo de la MDMA en la actividad motora espontánea han mostrado resultados inconsistentes. La exposición prenatal a MDMA (2x15 mg/kg/día) en ratas provoca una mayor actividad motora espontánea así como una falta de habituación a un ambiente novedoso (Koprach y cols., 2003), y un tratamiento con MDMA en la adolescencia (PND 35 a 60) provoca alteraciones en la habituación al campo abierto y mayor actividad motora en el LEC, 4 días después de finalizar el tratamiento. De forma similar, la administración de un binge semanal de MDMA (3x5 mg/kg/semana) produce un incremento de la actividad motora, una o tres semanas después del tratamiento (Kindlundh-Högberg y cols., 2007). En ratones también se ha observado un incremento en la actividad motora espontánea y un menor descenso de actividad como consecuencia de la habituación, 3 semanas después de un tratamiento intermitente con MDMA (10 o 20 mg/kg, 2 veces al día en PND 33, 34, 41 y 42) (Rodríguez-Arias y cols., 2011). Por el contrario, ratas adultas que recibieron un tratamiento con MDMA (4x10 mg/kg cada dos horas durante un día) mostraron una semana después un descenso en la actividad motora diurna y nocturna (Wallace y cols., 2001). Por su parte, Marston y cols., (1999) no encontraron alteraciones en la actividad motora de ratas adultas dos semanas después de un tratamiento con dosis crecientes de MDMA (10, 15 y 20 mg/kg/día, dos inyecciones por dosis). De acuerdo con esto Ho y cols. (2004) tampoco observan alteraciones en la actividad motora de ratas 9 o 10 días después de recibir 7.5 o 15 mg/kg de MDMA.

Lo que parece claro es que la MDMA induce sensibilización conductual (Anderson e Itzhak, 2003; Itzhak y cols., 2003; Ball y cols., 2006, 2009; Modi y cols., 2006; Walker y cols., 2007; Varela y cols., 2011), especialmente en ratas hembra (Walker y cols., 2007), fenómeno que se cree relevante para el craving y la adicción en

humanos. La inducción de la sensibilización a los efectos motores de la MDMA no depende de la existencia de efectos neurotóxicos, aunque cuando esto ocurre la sensibilización conductual persiste durante más tiempo, llegando a observarse hasta 80 días después de un tratamiento con MDMA (Itzhak y cols., 2003). El contexto juega un papel importante en el establecimiento de la sensibilización conductual, de forma que ésta se observa en ratas en un contexto en el que previamente habían recibido la droga, pero no cuando la administración "challenge" se administra en un ambiente novedoso (Ball y cols., 2006). En cuanto a los receptores implicados, la estimulación de los receptores D₁ no parece necesaria para el desarrollo de la sensibilización conductual, ya que la administración de SCH 23390 durante el tratamiento crónico con MDMA no previene el desarrollo de la misma; sin embargo, su expresión sí que depende de la activación de estos receptores en el núcleo del N. Acc. (Ramos y cols., 2004). El bloqueo de la expresión de la sensibilización conductual mediante el antagonismo de los receptores D₁ está modulado por los receptores 5-HT_{2C} en la CPF medial, ya que un antagonista 5-HT_{2C} en este área previene el bloqueo de la sensibilización conductual inducido por SCH 23390, un antagonista D₁ (Ramos y cols., 2005a). A nivel anatómico parece que el estriado y la CPF participan en este fenómeno el cual se acompaña de una reorganización de la conectividad sináptica de los circuitos límbico-cortico-estriatales (Ramos y cols., 2005b; Ball y cols., 2006, 2009).

- Ansiedad.

Se han observado cambios en la ansiedad a largo plazo tras la administración de MDMA, aunque los resultados observados no son siempre coincidentes. Mientras que la mayoría de estudios han encontrado incrementos en la ansiedad evaluada en diferentes momentos, hasta 3 meses después de la exposición a MDMA (Morley y cols., 2001; Fone y cols., 2002; Gurtman y cols., 2002; McGregor y cols., 2003a, 2003b; Bull y cols., 2004; Thompson y cols., 2004, 2008; Faria y cols., 2006; Walker y cols., 2007; Cunningham y cols., 2009; Rodríguez-Arias y cols., 2011), Bull y cols., (2003), no observaron diferencias en el campo abierto o en el LEC, 21 o 25 días después del tratamiento con MDMA, pero sí una reducción de la interacción social a

los 20 días de abstinencia. De forma similar, Ho y cols., (2004) no encontraron indicadores de efectos a largo plazo sobre la ansiedad en el campo abierto y LEC, 20 y 21 días después de una única administración de 7.5 mg/kg de MDMA. Igualmente, Daza-Losada y cols (2008) no observaron alteraciones en el LEC 3 semanas después de un tratamiento con MDMA (2x 5, 10 o 20 mg/kg x 3 días), pero sí un incremento de los contactos sociales con coespecíficos en la prueba de interacción social. Por su parte, Mehan y cols (2002a) observaron una reducción en las conductas ansiosas de ratas Dark Agouti, 73 y 80 días después de una única administración de 12.5 mg/kg de MDMA, evaluadas en el LEC y en el campo abierto. Green y McGregor (2002) proponen que al menos en ratas, las alteraciones serotoninérgicas provocan un efecto ansiogénico o ansiolítico en función en la ansiedad basal de los animales, que difiere entre cepas, la magnitud de las alteraciones serotoninérgicas o la prueba conductual empleada. De acuerdo con esto, se desarrolla un efecto ansiogénico y una reducción en la interacción social como consecuencia a largo plazo tras la exposición a MDMA, cuando esta produce alteraciones en el funcionamiento serotoninérgico (Fone y cols., 2002; Bull y cols., 2004). Sin embargo, el efecto neurotóxico no sería necesario para observar estos efectos a largo plazo, ya que Fone y cols. (2002) han observado una menor interacción social en ratas adultas tratadas con MDMA durante la adolescencia en ausencia de efecto neurotóxico. De forma similar, Rodríguez-Arias y cols. (2011) han observado menos contactos sociales y menos agresividad en ratones adultos tratados durante la adolescencia con MDMA, y proponen que los descensos observados en DA y DOPAC podrían explicar este efecto ansiogénico. Sin embargo, Morley-Fletcher y cols. (2002) informan de una mayor tasa de conductas exploratorias y de interacción social en ratones adultos tratados con MDMA durante la adolescencia. Por su parte, Piper y Meyer (2004) observaron efectos ansiolíticos a largo plazo tras un tratamiento con MDMA en ratas adolescentes, evaluando la ansiedad mediante el LEC cuando éstas fueron adultas, en ausencia de neurotoxicidad serotoninérgica severa (sólo un modesto descenso de la unión al SERT). En el campo abierto, las ratas pero no los ratones, muestran un aumento en la actividad en la zona central, una o tres semanas después de un tratamiento con MDMA (3x5 mg/kg/semana) indicando un efecto ansiolítico o un incremento de la impulsividad. Estas ratas mostraron una menor densidad del SERT en la corteza del

N. Acc., lo cual no sucedió en el caso de los ratones (Kindlundh-Högberg y cols., 2007). Saadat y cols. (2006) estudiaron la impulsividad de ratas tratadas previamente con MDMA para comprobar si la desinhibición de la conducta pudiera estar siendo interpretada como ansiólisis, concluyendo que la MDMA no afecta a la impulsividad a largo plazo.

Otro efecto a largo plazo tras un tratamiento con MDMA es el incremento en la inmovilidad y el descenso en las respuestas activas en la prueba de natación forzada, un modelo de depresión (Thompson y cols., 2004; McGregor y cols., 2003a; Renoir y cols., 2008). Sin embargo, ratones KO para el SERT no muestran este efecto (Renoir y cols., 2008) y la fluoxetina revierte, al menos parcialmente, estos signos en la prueba de natación forzada (Thompson y cols., 2004).

- Memoria.

La administración de MDMA produce déficits a largo plazo en el aprendizaje de tareas en las que están implicados procesos de memoria secuencial y espacial (Marston y cols., 1999; Broening y cols., 2001; Sprague y cols., 2003; Williams y cols., 2003; Cohen y cols., 2005; Able y cols., 2006; Skelton, y cols., 2006, 2009, 2011; Kay y cols., 2011). En concreto, parece que la exposición crónica de MDMA altera de forma especial la memoria de referencia (Broening y cols., 2001; Sprague y cols., 2003; Vorhees y cols., 2004; Able y cols., 2006; Kay y cols., 2011). Las alteraciones hipocampales provocadas por la MDMA, caracterizadas por disminuciones en los niveles de 5-HT y DA, (Sprague y cols., 2003; Cohen y cols., 2005), y/o la muerte neuronal inducida por MDMA en el hipocampo (Meyer y cols., 2004; Tamburini y cols., 2006) pueden estar relacionadas con estos déficits de memoria. En ratones, la administración de MDMA en dosis acumulativas de 10-50 mg/kg, deteriora del aprendizaje espacial e incrementa la fosforilación de la proteína tau, un evento típicamente asociado con la enfermedad de Alzheimer y otros trastornos neurodegenerativos (Busceti y cols., 2008).

El momento en el que se produce la exposición a la droga puede determinar las consecuencias posteriores en el aprendizaje. Así, la exposición de MDMA (10 o 20

mg/kg) en los PND 11-20 produce alteraciones dependientes de la dosis en aprendizaje secuencial, aprendizaje espacial y memoria, mientras que las ratas expuestas durante los PND 1-10 apenas evidenciaron alteraciones (Broening y cols., 2001; Williams y cols., 2003). El periodo neonatal PND 10-20 se considera un modelo del tercer trimestre del desarrollo cerebral fetal en humanos, por lo que estos resultados indicarían que los hijos de madres que consumen MDMA durante el tercer trimestre de gestación podrían sufrir alteraciones del neurodesarrollo que les condujeran a déficits en el aprendizaje y la memoria (Broening y cols., 2001).

Además, parece que la administración de MDMA afecta a la flexibilidad cognitiva, ya que cuando se requiere que los animales, tanto roedores como primates, adapten su conducta a unas nuevas normas una vez ha sido adquirida la tarea inicial, los animales tratados con MDMA muestran una peor ejecución (Williams y cols., 2003; Clarke y cols., 2004, 2007; Able y cols., 2006; Skelton y cols., 2006; Kay y cols., 2011).

Diferentes tareas difieren en su sensibilidad para detectar las alteraciones a largo plazo en la memoria producidas por la MDMA, probablemente porque evalúan diferentes tipos de memoria. Por ejemplo, Piper y Meyer (2004) observaron alteraciones en el reconocimiento de un objeto, 5 días después de finalizar el tratamiento intermitente con MDMA, en ausencia de signos de daño serotoninérgico severo. En otro estudio se observó, un déficit atencional en el reconocimiento de un objeto y una disminución en la unión al SERT en el neocortex, 4 días después de un tratamiento con MDMA entre los PND 35 a 60 (Piper y cols., 2005). Las alteraciones cognitivas a largo plazo producidas por la MDMA evidenciadas por las alteraciones en la prueba del reconocimiento de un objeto pueden apreciarse en ratas hasta 3 meses después de haber administrado la droga (Morley y cols., 2001). Por el contrario, Moyano y cols. (2005) no encontraron alteraciones en la prueba de evitación pasiva ni alteraciones hipocampales en marcadores moleculares asociados con el aprendizaje como la expresión de receptores NMDA, la densidad de la proteína post-sináptica PSD-95, la proteína fosfatasa 1 y la CaMKII fosforilada, tras la exposición a MDMA (2x10 mg/kg/día x 4 días), aunque este tratamiento disminuye el contenido de 5-HT en el hipocampo una semana después del tratamiento. Por otra parte, tras una dosis challenge de 10 mg/kg si que se produce un rápido descenso

de la inmunoreactividad de la PSD-95 y se bloquea el incremento de la subunidad NR1 del receptor NMDA y la CaMKII (Moyano y cols., 2005). De acuerdo con esto, Rodríguez-Arias y cols. (2011) tampoco encontraron alteraciones en la prueba de evitación pasiva tres semanas después de un tratamiento intermitente con MDMA (10 o 20 mg/kg, 2 veces al día en PND 33, 34, 41 y 42).

Igualmente, si se examinan diferentes tareas con el laberinto de Morris, se ha observado que la exposición crónica y en binge de MDMA deteriora la ejecución en la tarea estándar que se emplea para evaluar los procesos de memoria de referencia, pero no afecta otras tareas que sirven para evaluar memoria de trabajo (Vorhees y cols., 2004) o a las tareas de memoria guiadas por claves (Broening y cols., 2001; Williams y cols., 2003; Vorhees y cols., 2004). De forma similar, la mayoría de trabajos en los que se emplean tareas operantes como las tareas de emparejamiento demorado con la muestra no se han observado evidencias de deterioro en el aprendizaje (Byrne, y cols., 2000; Winsauer y cols., 2002; Moyano y cols., 2005), aunque Marston y cols., (1999) informaron de que un régimen de MDMA en binge deterioró la ejecución en una tarea de este tipo 16 días después del tratamiento, sugiriendo un efecto dañino a largo plazo en la memoria.

3.4.2. Efectos a largo plazo en humanos.

Aunque existen trabajos que relacionan el consumo de MDMA con diferentes trastornos mentales, secuelas psicológicas y neuropsicológicas, éstos tienen algunas limitaciones inherentes al estudio de las drogas en humanos, que dificultan la interpretación de los datos que ofrecen. El número de sujetos, las técnicas de muestreo empleadas, el empleo de autoinformes, la heterogeneidad en el consumo de la droga, el tiempo transcurrido desde la ingesta de la misma, el consumo de otras drogas, el desconocimiento de las dosis y la pureza de las sustancias ingeridas, etc. son factores difíciles de controlar en la investigación con humanos que dificultan la interpretación de los datos (Saiz y Bobes, 2009). Los trastornos observados en consumidores de MDMA podrían no obedecer a una relación de causa-efecto. El consumo de otras sustancias dificulta también el establecimiento de

esta causalidad, ya que podría ser alguna de las demás sustancias consumidas, o la interacción de diversas drogas, las que estuvieran causando el efecto observado (Parrott y cols., 2001; Saiz y Bobes, 2009). Sin embargo, estos trabajos son necesarios para complementar y confirmar los datos procedentes de la investigación con animales, ya que éstos presentan algunas diferencias farmacocinéticas y metabólicas con los humanos (Capela y cols., 2009).

3.4.2.1. Psicopatología asociada al consumo de MDMA.

De forma consistente en diferentes trabajos se encuentra que los consumidores de MDMA muestran mayores índices de psicopatología (Lieb y cols., 2002; Parrot y cols., 2000b, 2002; Thomasius y cols., 2003, 2006; Karlsen y cols., 2008; Fisk y cols., 2011). En un estudio con consumidores recreativos se ha observado que un 53% de los participantes tenía algún problema psicopatológico, principalmente depresión, trastornos psicóticos o alteraciones cognitivas, trastornos alimentarios y del control de impulsos, trastorno de pánico y fobia social, existiendo una asociación entre la aparición de estos trastornos y la frecuencia y duración del consumo. Los sujetos que mostraban esta problemática comenzaron a una edad más temprana el consumo de éxtasis, tomaron dosis mayores (en cada consumo y acumulativas) y consumieron MDMA durante periodos de tiempo más prolongados (Schifano y cols., 1998). En algunos trabajos se ha observado una correlación entre el nivel de consumo de MDMA y la severidad de la psicopatología (Parrott y cols., 2000b, 2002; Dughiero y cols., 2001; Fisk y cols., 2011), aunque las consecuencias adversas derivadas del consumo de MDMA pueden darse incluso tras exposiciones mínimas (Cohen, 1995).

Los trastornos mentales más graves frecuentemente asociados al consumo de MDMA son los trastornos psicóticos, que a menudo evolucionan de modo crónico, con fases de exacerbación habitualmente relacionadas con periodos de consumo de la droga. En estos casos predominan las ideas delirantes sobre las alucinaciones. El contenido de los delirios suele estar relacionado con ideas de persecución, referencia, grandeza, cambios corporales o celos (Winstock, 1991; Schifano, 1991; Creighton y cols., 1991; McGuire y Fahy, 1991; Maxwell y cols., 1993; Williams y

cols., 1993; McGuire y cols., 1994; Cohen, 1996; Schifano y Magni, 1994; Schifano y cols., 1998; Landabaso y cols., 2002; Vaiva y cols., 2001; Van Kampen y Katz, 2001; Vecellio y cols., 2003; Karlsen y cols., 2008; Marchesi y cols., 2009; Sáiz y Bobes, 2009). Se ha propuesto que la hiperreactividad noradrenérgica que muestran los consumidores de éxtasis y que se relaciona con la prevalencia del consumo estaría asociada con los episodios psicóticos (Stuerenburg y cols., 2002).

A veces en el contexto de un episodio de psicosis, pero también como sintomatología predominante, se han descrito cuadros de flashbacks con síntomas perceptivos como alucinaciones visuales o auditivas (Creighton y cols., 1991; McGuire y Fahy, 1992; McGuire y cols., 1994; Schifano y Magni, 1994).

También son frecuentes los ataques de pánico que en algunos casos pueden evolucionar hacia un trastorno de pánico, y de forma secundaria a este puede llegar a desarrollarse sintomatología agorafóbica o depresiva (McCann y Ricaurte, 1991, 1992; Pallanti y Mazzi, 1992; McGuire y cols., 1994; Schifano y Magni, 1994; Cohen, 1996; Schifano y cols., 1998; Windhaber y cols., 1998; Liechti y cols., 2005; Karlsen y cols., 2008; Saiz y Bobes, 2009). Los trastornos afectivos relacionados con el consumo de MDMA son menos frecuentes, pero también se han descrito casos de depresión mayor con ideación suicida (McGuire y cols., 1994; Schifano y Magni, 1994; Cohen, 1996; Cohen y Cocores, 1997; Schifano y cols., 1998; Soar y cols., 2004; Fetter, 2005; Freudemann y cols., 2006; Saiz y Bobes, 2009; Matthews y Bruno, 2010). Sin embargo algunos datos sugieren que el consumo de éxtasis no se asocia con la depresión clínica aunque el número de pastillas consumidas se asocia con mayores puntuaciones en el Inventario de Depresión de Beck, y esto continúa una vez abandonado el consumo, por lo que serían necesarios estudios prospectivos para determinar la relación causal (de Win y cols., 2004). Las alteraciones afectivas se han relacionado con las disminuciones en la densidad del SERT observadas en los consumidores de éxtasis, y en concreto, se ha determinado que los sujetos que expresan un determinado alelo del gen que codifica el SERT (el alelo "short") podrían ser más vulnerables a las alteraciones afectivas y cognitivas causadas por la MDMA (Roiser y cols., 2005). En el plano psicológico, las alteraciones del humor relacionadas con el consumo de MDMA, se asocian con menores niveles de

inteligencia emocional, lo que pudiera relacionarse con un funcionamiento alterado del cortex orbitofrontal (Craig y cols., 2010).

La predisposición previa de la persona, debido a su carga genética y a su historia personal podría influir en la aparición del trastorno mental (Scott y cols., 2010). Así, en muchos casos los usuarios de MDMA presentan trastornos mentales pre-existentes o antecedentes familiares (Krystal y cols., 1992; McGuire y cols., 1994; Lieb y cols., 2002; Huizink y cols., 2006; Karlsen y cols., 2008). En un estudio prospectivo con 2500 personas durante un periodo de 4 años, los problemas psiquiátricos precedieron al consumo de MDMA en aproximadamente el 80% de los casos (Lieb y cols., 2002). Según Huizink y cols., (2006) el consumo de MDMA se precedía por síntomas de depresión y ansiedad en la infancia y adolescencia, por lo que los efectos de la MDMA podrían ser particularmente atractivos para sujetos con estas características, que podrían emplear el éxtasis como una forma de auto-medicación. Por contra, Soar y cols. (2001) señalan en una revisión sobre estudios de caso relacionados con MDMA durante una década que sólo el 24% de los casos existía una historia previa de trastorno mental y el 34% tenía antecedentes familiares de primer grado, lo que junto con la relación temporal con el consumo de MDMA sugiere una relación causal entre el consumo de la droga y las manifestaciones neuropsiquiátricas. Por su parte, de Win y cols. (2006) informaron de que la depresión, la impulsividad y la búsqueda de sensaciones no predicen el consumo de MDMA en un estudio prospectivo con una muestra de jóvenes adultos.

El consumo de otras drogas también puede influir en los resultados de las investigaciones sobre la psicopatología causada por MDMA en humanos, ya que los consumidores de esta droga habitualmente consumen otras sustancias (Karlsen y cols., 2008). Algunos estudios informan de la ausencia de diferencias en salud mental entre consumidores de MDMA y consumidores de otras drogas sin experiencia con MDMA (Morgan, 1998; Thomasius y cols., 2003; Dafters y cols., 2004; Milani y cols., 2004; Karlsen y cols., 2008). En general, parece que el consumo de cannabis sería tan importante como el de MDMA, y que el consumo elevado de drogas en general se asocia de forma significativa con la psicopatología (Parrott y cols., 2001; Daumann y cols., 2001, 2004a; Karlsen y cols., 2008).

En cuanto a la reversibilidad de estos efectos en los consumidores de MDMA, algunos estudios encuentran pocas o ninguna diferencia en las medidas observadas en consumidores actuales y ex-consumidores (Thomasius y cols., 2003; Morgan y cols., 2002, 2006; Soar y cols., 2004), aunque otros encuentran cierta mejoría (Gerra y cols., 2000; Wareing y cols., 2000; de Win y cols., 2004; Fisk y cols., 2011).

3.4.2.2. Otras consecuencias psicológicas asociadas al consumo de MDMA.

En un estudio sobre la incidencia de consecuencias a largo plazo del consumo de MDMA en consumidores noveles, moderados y grandes consumidores, los participantes describieron problemas de memoria, ansiedad, depresión, alteraciones del humor, problemas de concentración, temblores, inquietud y pérdida de peso, relacionándose directamente estos problemas con el número de ocasiones en las que se había consumido la droga (Parrott y cols., 2002). El consumo regular de MDMA se asocia con alteraciones del sueño consistentes en una disminución del tiempo total de sueño y del tiempo de sueño REM, detectándose en grandes consumidores mayores puntuaciones en el factor de insomnio del Inventario de Síntomas SCL-90 (McCann y Ricaurte, 1991; Pavarin, 2006; Randall y cols., 2009; Saiz y Bobes, 2009).

El consumo intenso de MDMA parece asociarse a la aparición de sintomatología depresiva, aunque cuando se controlan posibles variables contaminantes, esta asociación desaparece (Morgan, 1998; Gamma y cols., 2000; Parrot y cols., 2000b; MacInnes y cols., 2001; Morgan y cols., 2002; Saiz y Bobes, 2009; Matthews y Bruno, 2010; Schilt y cols., 2010). En un metaanálisis se señala que los síntomas depresivos se incrementaban de forma significativa, pero que sin embargo, el efecto sería muy pequeño por lo que probablemente no tendría relevancia clínica. Sin embargo, en este trabajo se señala la existencia de una asociación con el número de pastillas consumidas, pero no con el cese del consumo (Sumnall y Cole, 2005). En algunos casos (12-14%) los consumidores refieren problemas en su actividad sexual o una pérdida de deseo sexual, especialmente los grandes consumidores (Topp y cols., 1999; Parrott y cols., 2001; Zemishlany y cols., 2001). Concretamente, parece

que a pesar de incrementar el deseo y la percepción de mayor satisfacción, el éxtasis deteriora la ejecución (Zemishlany y cols., 2001).

En cuanto a la ansiedad, parece que no se da una elevación persistente en los niveles de ansiedad con un consumo bajo o moderado, pero sí con los consumos intensos. Además, parece que habría una mejoría tras un periodo de abstinencia prolongado (Gamma y cols., 2000; Parrot y cols., 2000b, 2001; Morgan y cols., 2002; Wareing y cols., 2000; Saiz y Bobes, 2009; Fisk y cols., 2011).

La mayoría de las investigaciones encuentran que los consumidores de MDMA tienen mayores niveles de impulsividad y búsqueda de sensaciones que los sujetos controles (Morgan, 1998, 2002; Parrot y cols., 2000b; Dughiero y cols., 2001; Quednow y cols., 2007; Hanson y cols., 2008; Saiz y Bobes, 2009). Por otra parte, un consumo prolongado y/o intenso de MDMA se asocia con niveles elevados de hostilidad y conductas agresivas, aunque esto también parece revertir con una abstinencia prolongada (Parrot y cols., 2000b, 2001; Saiz y Bobes, 2009).

3.4.2.3. Consecuencias neuropsicológicas asociadas al consumo de MDMA.

Como se ha comentado en el apartado referente a los efectos en animales de laboratorio, actualmente existen evidencias de toxicidad dopaminérgica inducida por MDMA en ratones. Además, se ha informado de la aparición de parkinsonismo en consumidores de esta droga, por lo que se piensa existe la posibilidad de que aparezca a largo plazo un síndrome parkinsoniano por déficit de actividad dopaminérgica en el sistema extrapiramidal (Saiz y Bobes, 2009).

El sistema serotoninérgico inerva regiones límbicas y frontales asociadas con el aprendizaje y la memoria. Numerosos trabajos señalan la asociación entre el consumo de MDMA y las alteraciones persistentes de memoria (McCann y Ricaurte, 1991; Curran y Travill, 1997; Bolla y cols., 1998; Parrot y Lasky, 1998; Schifano y cols., 1998; McCann y cols., 1999b; Morgan, 1999, 2002; Gouzoulis-Mayfrank y cols., 2000; Reneman y cols., 2000; Rodgers, 2000; Wareing y cols., 2000; Bhattachary y Powell, 2001; Croft y cols., 2001; Fox y cols., 2001; Reneman y cols., 2001c, 2001e; Montgomery y cols., 2005; Quednow y cols., 2006; Thomasius y cols., 2006; Karlsen y cols., 2008; Saiz y Bobes, 2009; Fagundo y cols., 2010;

Hanson y Luciana, 2010). Incluso una pequeña dosis acumulativa (3,2 pastillas) en voluntarios sanos sin experiencia con la droga, se asocia con un descenso en la memoria verbal, en comparación con controles no consumidores (Saiz y Bobes, 2009). En general los diferentes trabajos parecen de acuerdo en que el consumo moderado o intenso de MDMA se asocia con una alteración persistente de la memoria verbal y de trabajo, lo cual podría estar relacionado con la importancia del consumo realizado y con las alteraciones serotoninérgicas (Curran y Travill, 1997; Parrot y Lasky, 1998; Gouzoulis-Mayfrank y cols., 2000, 2005; Rodgers, 2000; Bhattachary y Powell, 2001; Croft y cols., 2001; Fox y cols., 2001b; Reneman y cols., 2001c, 2001e; Morgan y cols., 2002; Quednow y cols., 2006; Thomasius y cols., 2006; Karlsen y cols., 2008; Saiz y Bobes, 2009). Se ha propuesto que el deterioro en el conocimiento como en el recuerdo semántico y el déficit en fluencia verbal podría atribuirse a alteraciones en circuitos fronto-estriatales, así como a un agotamiento de almacenes léxico-semánticos mediados por estructuras temporales (Fagundo y cols., 2010). Sin embargo, recientemente Halpern y cols. (2011) no encontraron signos de deterioro cognitivo en consumidores de éxtasis con exposición mínima a otras drogas por lo que subrayan la cautela con la que habría que interpretar los datos obtenidos en consumidores de múltiples drogas. Sin embargo, Parrot (2011) señala a este respecto que el escaso deterioro cognitivo encontrado en el trabajo de Halpern y cols. (2011) es consistente con los trabajos previos, y que factores como la exposición total al éxtasis, la intensidad de su consumo en cada sesión, contexto en el que se realiza el consumo o el consumo de otras drogas serían determinantes importantes de las consecuencias neuropsicológicas.

En algunos trabajos se han detectado alteraciones en la planificación, atención, concentración, precisión, reconocimiento visual, fluidez verbal, tiempo de reacción, tareas de razonamiento lógico, toma de decisiones, velocidad de procesamiento y flexibilidad cognitiva (Curran y Travill, 1997; McCann y cols., 1999b; Gouzoulis-Mayfrank y cols., 2000; Croft y cols., 2001; Fox y cols., 2002; Hanson y Luciana, 2004; von Geusau y cols., 2004; Smith y cols., 2006; Dafters, 2006; Quednow y cols., 2007; Hanson y cols., 2008; Saiz y Bobes, 2009). A este respecto, se ha observado que los consumidores recreativos de éxtasis presentan alteraciones en la

actividad de regiones cerebrales implicadas en los procesos de control cognitivo (Roberts y Garavan, 2010).

En relación a las alteraciones cognitivas, una de las principales variables de confusión es el consumo de otras drogas, y en particular el consumo de cannabis que es muy prevalente entre los consumidores de MDMA. Aunque en la mayoría de trabajos los efectos cognitivos de la MDMA persisten una vez controlado el efecto de otras drogas (Gouzoulis-Mayfrank y cols., 2000; Bhattachary y Powell, 2001; Fox y cols., 2001; Heffernan y cols., 2001a, 2001b; Verkes y cols., 2001; Morgan y cols., 2002; Halpern y cols., 2004; Karlsen y cols., 2008), algunos estudios no encuentran diferencias en las habilidades cognitivas entre los consumidores de éxtasis y cannabis, o señalan al cannabis como el principal responsable o al menos como un agravante de las alteraciones cognitivas (Gouzoulis-Mayfrank y cols., 2000; Croft y cols., 2001; Dafters y cols., 2004; Simon y Mattick, 2002; Lamers y cols., 2006; Karlsen y cols., 2008; Hanson y Luciana, 2010).

En cuanto a la reversibilidad de las alteraciones cognitivas causadas por la MDMA, se ha sugerido que las alteraciones cognitivas serían potencialmente irreversibles (Wareing y cols., 2000, 2004, 2005; Morgan y cols., 2002; Ward y cols., 2006; Thomassius y cols., 2006), aunque también se ha informado de una correlación positiva entre el tiempo desde el último consumo de MDMA y la mejoría en el funcionamiento cognitivo (Morgan, 1999; Bhattachary y Powell, 2001).

3.4.2.4. Neurotoxicidad.

Los hallazgos en los trabajos de neuroimagen son consistentes con las alteraciones comentadas. Las regiones más sensibles al daño producido por el consumo de MDMA parecen ser las regiones occipitoparietales y frontales de la corteza, el núcleo caudado, el hipocampo y la amígdala. La inervación serotoninérgica de la amígdala y del hipocampo procedente del rafe dorsal parece implicada en la mediación de los efectos ansiogénicos y la deplección serotoninérgica de la amígdala puede facilitar comportamientos agresivos. Por otra parte, el funcionamiento normal del hipocampo es importante para la memoria, y se ha observado en primates que las lesiones

combinadas de hipocampo y amígdala producen amnesia grave. Además, lesiones en circuitos corticotalámicos se asocian con alteraciones en el recuerdo de información recientemente aprendida, en las funciones ejecutivas o con depresión y desinhibición (Saiz y Bobes, 2009).

Kish y cols. (2000) encontraron un importante descenso en 5-HT y 5-HIAA en el cerebro de un consumidor de MDMA que había consumido la droga de forma regular durante 9 años, en una medición realizada 21 horas postmortem. Aunque esta persona había consumido otras drogas, probablemente estos efectos en las concentraciones de 5-HT y 5-HIAA fueran debidos al empleo crónico de MDMA. Más recientemente estos autores encontraron en un estudio post-mortem del cerebro de un consumidor de altas dosis de MDMA, una importante reducción en los niveles de SERT en el estriado y córtex occipital, estando las cortezas temporales y occipital menos afectadas; además, la TPH estaba disminuida en caudado y putamen (Kish y cols., 2010). Sin embargo, habitualmente el estudio de los efectos neurotóxicos a largo plazo de la MDMA se realiza mediante métodos indirectos como la detección de metabolitos de 5-HT en líquido cefalorraquídeo o estudios de neuroimagen con ligandos del SERT. Así, se ha observado que los consumidores de MDMA presentan menores niveles de 5-HIAA en líquido cefalorraquídeo, siendo esta reducción mayor en mujeres (McCann y cols., 1994, 1999; Bolla y cols., 1998). La MDMA reduce la densidad, actividad o disponibilidad del SERT en diferentes áreas cerebrales como la CPF dorsolateral y orbitofrontal, córtex parietal, el mesencéfalo o el núcleo caudado (McCann y cols., 1998, 2005, 2008; Semple y cols., 1999; Reneman y cols., 2001b; Buchert y cols., 2003, 2004; Thomasius y cols., 2003, 2006; Meneses y cols., 2011), especialmente en las mujeres (Reneman y cols., 2001b; Buchert y cols., 2004), lo que se ha asociado con los déficits cognitivos previamente comentados (McCann y cols., 1999, 2008). De forma similar, se ha observado una disminución en la densidad de los receptores postsinápticos 5-HT_{2A} en todas las áreas corticales estudiadas, pero la densidad de estos receptores fue mayor en el córtex occipital de ex-consumidores (Reneman y cols., 2002). Además, los usuarios de MDMA presentan múltiples regiones cerebrales, como corteza, cerebelo o áreas en la línea media del tronco cerebral con reducciones en la sustancia gris, lo que podría explicar algunos de los trastornos neuropsiquiátricos observados (Cowan y cols., 2003). La

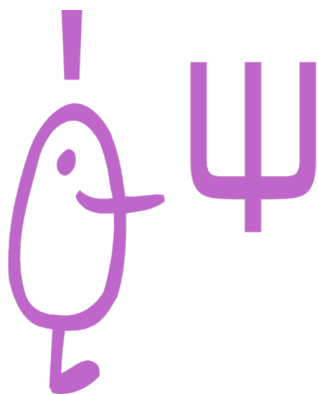
inervación serotoninérgica del hipocampo parece ser particularmente vulnerable a la exposición moderada de MDMA durante la adolescencia, y se propone que las alteraciones hipocampales tras el consumo de éxtasis pudieran ser un factor de riesgo para un inicio del declive cognitivo asociado a la edad precoz o de mayor severidad (Gouzoulis-Mayfrank y cols., 2003; Meyer y cols., 2008). A pesar de estos hallazgos, los defensores del empleo terapéutico de la MDMA señalan que en los estudios en los que se evalúan dosis moderadas y poco frecuentes no se observa deterioro neuropsicológico a largo plazo ni evidencias de neurotoxicidad (Holland, 1999; Halpern y cols., 2004; Lyvers y Hasking, 2004; Lyvers, 2011).

Además, los consumidores de éxtasis podrían presentar alteraciones neuroendocrinas. Se ha observado que presentan una respuesta atenuada tras la administración de mCPP (agonista y liberador de 5-HT), con un descenso en la respuesta del cortisol y la prolactina, así como una menor incidencia de ataques de pánico (McCann y cols., 1999b). De acuerdo con esto, Verkes y cols. (2001) encontraron una menor respuesta del cortisol, aunque no en la respuesta de la prolactina tras la administración de fenfluramina. Los consumidores de éxtasis podrían tener una menor sensibilidad de los receptores D_2 en el hipotálamo, ya que consumidores abstinentes durante 3 semanas muestran una menor respuesta de hormona de crecimiento tras la administración de bromocriptina, un agonista dopaminérgico (Gerra y cols., 2002, 2003). Estos autores posteriormente informaron de elevados niveles basales de ACTH y de cortisol en consumidores de éxtasis, aunque la respuesta de estas hormonas ante una situación estresante era menor (Gerra y cols., 2003), por lo que concluyen que una sensibilidad menor de los receptores D_2 , una hiperactividad basal del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal y una menor respuesta al estrés, puede representar una compleja alteración neuroendocrina asociada al consumo de MDMA.

La abstinencia en el consumo de MDMA no implica la reversión completa de sus efectos neurotóxicos, aunque existe cierta recuperación tras largos periodos de abstinencia (Reneman y cols., 2001b; Buchert y cols., 2003, 2004, 2006; McCann y cols., 2005; Thomassius y cols., 2006). Algunos estudios han mostrado que la abstinencia se asocia con la recuperación de la disponibilidad del SERT (Thomassius y

cols., 2006). De acuerdo con esto, consumidores abstinentes al menos 18 meses muestran patrones de activación cortical similares a los controles, mientras que los consumidores actuales de MDMA presentan una mayor activación parietal durante una tarea con requerimientos de memoria de trabajo. Estas alteraciones serían detectables antes de poder apreciarse alteraciones cognitivas, por lo que se ha propuesto que pudiera tratarse de un estado temprano de lesión neuronal (Daumann y cols., 2004). Sin embargo, hay que tener presente que la función serotoninérgica tiende a declinar con la edad. Se ha propuesto que los déficits de memoria observados en consumidores de MDMA pueden estar relacionados con una alta vulnerabilidad del hipocampo a sus efectos neurotóxicos, así como a lesiones en otras estructuras como la corteza frontal, y que estas alteraciones podrían acelerar el deterioro de la memoria relacionado con la edad (Jacobsen y cols., 2004; Quednow y cols., 2006).

Antecedentes: efecto reforzante de la MDMA



4.1. Efecto reforzante de la MDMA en animales.

Como todas las drogas, la MDMA produce un incremento en la liberación de DA en el N. Acc., preferentemente en la corteza, lo cual parece modulado por interacciones entre la 5-HT y el GABA (Yamamoto y Spanos, 1988; White y cols., 1994, 1996; Marona-Lewicka y cols., 1996; Camarero y cols., 2002; Bankson y Yamamoto, 2004; Robledo y cols., 2004b; Cadoni y cols., 2005; O'Shea y cols., 2005; Amato y cols., 2007; Trigo y cols., 2007; Feduccia y Duvauchelle, 2008; Touriño y cols., 2008; Reveron y cols., 2010; Kehr y cols., 2011; Orejarena y cols., 2011) y ejerce efectos reforzantes en los paradigmas de autoestimulación eléctrica intracraneal (AEIC), AA y CPL.

La MDMA disminuye el umbral de refuerzo necesario para conseguir la AEIC en el fascículo prosencefálico medial (Hubner y cols., 1988) y en el N. Acc. (Lin y cols., 1997), lo que indica que esta droga incrementa la sensibilidad de las ratas para la AEIC. La MDMA también puede alterar la tasa de respuesta para conseguir la AEIC aunque su efecto depende de la localización de los electrodos, ya que se observa un incremento de la tasa de respuesta cuando los electrodos están situados en el fascículo prosencefálico medial (Reid y cols., 1996) pero se produce una disminución cuando están situados en el N. Acc. (Lin y cols., 1997).

Utilizando el paradigma de AA se ha demostrado que la MDMA induce efectos reforzantes en monos rhesus (Beardsley y cols., 1986; Fantegrossi y cols., 2002; Lile y cols., 2005), en babuinos (Lamb y Griffiths, 1987), en ratas (Ratzenboeck y cols., 2001; Braida y Sala, 2002; Cornish y cols., 2003; Schenk y cols., 2003, 2007, 2008, 2011a; Ball y cols., 2007) y en ratones (Trigo y cols., 2006, 2007; Touriño y cols., 2008; Orejarena y cols., 2009, 2011; Ruiz-Medina y cols., 2011). La tasa de AA de MDMA es menor que la de cocaína (Beardsley y cols., 1986; Fantegrossi y cols., 2002; Lamb y Griffiths, 1987) o metanfetamina (Fantegrossi y cols., 2002), produce una curva dosis-respuesta en forma de U-invertida (Fantegrossi y cols., 2002; Trigo y cols., 2006) y se desarrolla gradualmente (Schenk y cols., 2003). La AA de MDMA sigue un patrón cíclico, similar al patrón típico de consumo humano, entremezclándose días de muchas, con días de pocas administraciones (Lamb y Griffiths, 1987) y siendo máxima la AA en los primeros momentos de la sesión con

tasas de respuesta más bajas posteriormente (Schenk y cols., 2003). Asimismo, se ha observado que la administración previa de cocaína facilita la AA de MDMA (Schenk y cols., 2003) y que la AA de MDMA es mayor en ambientes cálidos (Cornish y cols., 2003), un efecto que puede implicar una facilitación del funcionamiento del transportador de DA inducido por la temperatura (Xie y cols., 2000). De la Garza y Gupta (2007) resaltan en una revisión sobre la relevancia de los resultados obtenidos en el modelo de AA en roedores para los patrones de consumo humano, la importancia de realizar más investigaciones para determinar porqué los humanos consumen de forma abusiva una droga con un poder reforzante relativamente bajo en comparación a otras drogas.

La MDMA también ejerce efectos reforzantes en el paradigma de CPL en ratas (Bilsky y cols., 1990, 1991, 1998; Bilsky y Reid, 1991; Schechter, 1991; Marona-Lewicka y cols., 1996; Meyer y cols., 2002; Cole y cols., 2003; Cole y Sumnall, 2003; Braida y cols., 2005; Herzig y cols., 2005; Diller y cols., 2007; Feduccia y Duvauchelle, 2008; Catlow y cols., 2010) y en ratones (Salzmann y cols., 2003; Robledo y cols., 2004a y 2004b; Daza-Losada y cols., 2007, 2009, 2011; Rodríguez-Alarcón y cols., 2007; Marie-Claire y cols., 2008; Touriño y cols., 2008; Belkai y cols., 2009; Manzanedo y cols., 2010; Rodríguez-Arias y cols., 2010; Do Couto y cols., 2011).

4.2. Sistemas de neurotransmisión implicados en el efecto reforzante de la MDMA.

Varios sistemas de neurotransmisión parecen estar implicados en los efectos reforzantes de la MDMA, entre los que destacan el sistema serotoninérgico, dopaminérgico, opioide y cannabinoide.

El papel de la 5-HT, en el N. Acc. es menos conocido que el de la DA, aunque se sabe que muchas drogas aumentan las concentraciones extracelulares de 5-HT (White y cols., 1994) y que esta 5-HT liberada contribuiría a la liberación de DA inducida por MDMA (López-Muñoz y cols., 2004). En general, los antagonistas serotoninérgicos reducen los efectos reforzantes de la MDMA en distintos paradigmas. En concreto, la metisergida un antagonista serotoninérgico no

específico, bloquea la disminución en la tasa de respuesta de la AEIC inducida por la MDMA (Lin y cols., 1997), la quetaserina y el MDL 100907, antagonistas 5-HT₂, atenúan la AA de MDMA (Fantegrossi y cols., 2002), el MDL72222, un antagonista 5-HT₃ bloquea el CPL inducido por MDMA (Bilsky y Reid, 1991) y el tropisetron reduce el CPL inducido por MDMA aunque no lo bloquea completamente (Braidá y cols., 2005). Sin embargo, no se ha observado efecto de la metergolina, antagonista 5-HT_{1/2} (ni del antagonista beta-adrenérgico timolol) en el CPL inducido por MDMA en ratones (Robledo y cols., 2004a). Asimismo, los estudios con ratones modificados genéticamente han demostrado la implicación del sistema serotoninérgico en los efectos reforzantes del MDMA. La AA de MDMA es suprimida en ratones sin SERT (Trigo y cols., 2007) y disminuye en ratones sin receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A} (Orejarena y cols., 2011). Igualmente, los ratones sin receptores 5-HT_{2B} no presentan CPL tras la administración de MDMA (Doly y cols., 2009).

Los antagonistas dopaminérgicos también modifican los efectos reforzantes de la MDMA. El antagonista DA D₁ SCH 23390 produce un cambio a la derecha en la curva dosis respuesta de la AA de MDMA (Daniela y cols., 2004), y el antagonista DA D₂ eticlopride incrementa la tasa de respuesta mantenida por MDMA (Brennan y cols., 2009), así, tanto los receptores D₁ como los D₂ contribuyen al mantenimiento de la AA de MDMA. De forma similar, el CGS 10746B, un inhibidor de la liberación de DA, bloquea la adquisición del CPL inducido por MDMA (Bilsky y cols., 1998).

La implicación del sistema opioide en los efectos reforzantes de la MDMA es apoyada por los estudios farmacológicos con antagonistas pero no por estudios de manipulación genética. Así, el antagonista delta naltrindol bloquea el incremento en la tasa de respuesta para la AEIC inducida por la MDMA (Reid y cols., 1996) y el CPL inducido por MDMA (Belkaï y cols., 2009), mientras que los antagonistas mu naltrexona y naloxona reducen el CPL inducido por MDMA (Bilsky y cols., 1991; Braidá y cols., 2005). Sin embargo, ratones sin receptores mu presentan CPL (Robledo y cols., 2004b).

Los datos obtenidos sobre el papel del sistema cannabinoide en los efectos reforzantes de la MDMA son más difíciles de interpretar ya que los resultados observados están en función del tipo de técnica utilizada (bloqueo farmacológico con

antagonistas o manipulación genética) y del paradigma usado para evaluar los efectos reforzantes. El antagonista SR 141716A incrementa la AA (Braida y Sala, 2002) pero disminuye el CPL inducido por MDMA (Braida y cols., 2005). Por el contrario, los ratones sin receptores CB₁ no se autoadministran MDMA (Tourinho y cols., 2008), pero presentan CPL tras su administración (Tourinho y cols., 2008). Asimismo, en un estudio reciente de nuestro laboratorio hemos observado que una dosis baja del agonista cannabinoide WIN 55212-2 o del antagonista SR 141716A incrementan el CPL inducido por una dosis baja de MDMA; sin embargo, una dosis más alta de WIN 55212-2 disminuye el efecto reforzante de dosis mayores de MDMA (Manzanedo y cols., 2010). De forma similar la administración conjunta de THC y MDMA tiene diferentes efectos en el CPL en función de las dosis empleadas. Una dosis sub-umbral de THC (0.3 mg/kg) combinada con una dosis no reforzante de MDMA (3 mg/kg) induce CPL. Sin embargo, cuando la MDMA se administra en dosis efectiva (10 mg/kg), la misma dosis de THC produce un descenso en la preferencia de lugar inducida por la MDMA (Robledo y cols., 2007). De forma similar, con el modelo de AA ratones pre-tratados con una dosis baja de THC, se administraron dosis no efectivas de MDMA (0.06 mg/kg/infusión), sin afectar a la AA de una dosis efectiva (0.125 mg/kg/infusión) (Robledo y cols., 2007). Así, el THC parece disminuir el umbral reforzante de la MDMA. Estos datos sugieren que el sistema endocannabinoide está implicado, al menos en parte, en la mediación de los efectos reforzantes de la MDMA.

Otros neurotransmisores han sido implicados igualmente en los efectos reforzantes de la MDMA como la adenosina y la neurotensina. Ratones sin el receptor A_{2a} de la adenosina no muestran AA de MDMA (Ruiz-Medina y cols., 2011) y el antagonista de la neurotensina SR142948A reduce la expresión (pero no la adquisición) del CPL inducido por MDMA (Marie-Claire y cols., 2008).

4.3. Efectos de la MDMA sobre los efectos reforzantes de otras drogas.

La exposición de roedores adultos a MDMA puede afectar a su vulnerabilidad posterior a otras drogas como la cocaína, la amfetamina o el alcohol. Por ejemplo, la

pre-exposición a MDMA de roedores adultos facilita la adquisición del CPL inducido por cocaína (Horan y cols., 2000) y de la AA de cocaína (Fletcher y cols., 2001). También se ha observado que la administración de MDMA puede producir la reinstauración de la AA de cocaína (Schenk y cols., 2008; Trigo y cols., 2009). La pre-exposición a MDMA retrasa la adquisición pero facilita la reinstauración de la AA de anfetamina (Morley y cols., 2004) y la administración de MDMA a ratas privadas de etanol incrementa la AA de esta última droga durante la reinstauración (Moreno-Sanz y cols., 2009). Por el contrario, el pre-tratamiento con MDMA bloquea los efectos reforzantes del alcohol en el paradigma del CPL, lo que ha sido interpretado como una consecuencia funcional de la neurotoxicidad inducida por el MDMA que puede incrementar el riesgo de abuso del alcohol (Cole y cols., 2003). En un estudio reciente se ha observado que la administración conjunta de dosis inefectivas de alcohol y MDMA produce CPL, por lo que los autores señalan que el alcohol podría incrementar el riesgo de uso compulsivo de MDMA (Jones y cols., 2010).

La administración de MDMA a roedores durante la adolescencia incrementa la sensibilidad a las propiedades reforzantes de la MDMA (Daza-Losada y cols., 2009) y otras drogas como la morfina (Daza-Losada y cols., 2008) y la cocaína (Fone y cols., 2002; Achat-Mendes y cols., 2003; Aberg y cols., 2007) en la vida adulta. Los procesos de sensibilización conductual y bioquímica pueden contribuir a estos efectos, ya que se ha observado que la administración repetida de MDMA produce sensibilización conductual y aumenta la transmisión DA en el N. Acc. (Kalivas y cols., 1998).

4.4. Modelos de adicción.

Pocos estudios han evaluado los efectos reforzantes a largo plazo de la MDMA. Cuando se da a las ratas la posibilidad de elegir entre MDMA y agua durante 49 semanas, se observa que tras las primeras experiencias con la droga, los animales desarrollan un patrón estable de consumo de MDMA que va disminuyendo a medida que avanza el tiempo hasta que prácticamente cesa el consumo tras 3-7 meses. Además, tras 4 meses de abstinencia, todas las ratas dejan el consumo si la solución

de la droga era adulterada con el sabor amargo de la quinina, lo que indica que las ratas han mantenido un modo de consumo flexible y que no se han vuelto adictas (Reinhard y Wolffgramm, 2006).

Las señales ambientales asociadas al MDMA desarrollan propiedades condicionadas que pueden contribuir al consumo de la droga. Por ejemplo, en un estudio se asoció un estímulo luminoso con la infusión de MDMA durante la adquisición de la AA de MDMA, observándose posteriormente que si el estímulo o la infusión de MDMA se omiten, los animales presentan una disminución gradual en la AA a lo largo de 15 días de test (Daniela y cols., 2006).

Con el paradigma de CPL también se ha observado que la experiencia previa de MDMA puede producir cambios en los efectos reforzantes de esta droga. En un estudio inicial no se observaron efectos de la pre-exposición a cuatro dosis de MDMA, administradas en un intervalo de 6 horas, dos semanas antes de la adquisición del CPL inducido por MDMA, ya que tanto las ratas expuestas como las no expuestas a MDMA, desarrollaron CPL (Cole y cols., 2003). Sin embargo, varios estudios posteriores han mostrado que la pre-exposición a MDMA durante la adolescencia prolonga la duración del CPL inducido por dosis efectivas de MDMA (Ribeiro Do Couto y cols., 2011a) e incrementa los efectos reforzantes de dosis inefectivas de MDMA (Ribeiro Do Couto y cols., 2011b).

Tras un periodo de abstinencia, la exposición a la droga autoadministrada o a las señales ambientales asociadas con ella es capaz de producir una reinstauración de la conducta de búsqueda de droga en modelos animales. La administración de un "priming" de MDMA reinstaura la AA de MDMA pero no de cocaína. Tras la exposición repetida a MDMA ésta es capaz de reinstaurar también la AA de cocaína. Estos resultados sugieren que la experiencia intensiva con MDMA puede inducir una sensibilización al efecto reinstaurador de esta droga (Schenk y cols., 2008). El sistema dopaminérgico parece mediar los efectos reinstauradores del *priming* de MDMA, ya que la reinstauración de la AA de MDMA es menor si los animales reciben un antagonista DA D₁ (SCH 23390) o D₂ (eticlopride) antes del *priming* de MDMA (Schenk y cols., 2011). Del mismo modo, una señal compuesta (luz+tono) asociada a la AA de MDMA es capaz de reinstaurar la conducta de búsqueda de droga tras la

extinción, existiendo una correlación entre la magnitud de la AA de MDMA inicial y la observada tras la reinstauración (Ball y cols., 2007). La reinstauración inducida por señales también parece depender de la activación del sistema DA y serotoninérgico, ya que es potenciada por la administración del agonista D_2 quinpirole, el agonista indirecto anfetamina y el inhibidor de la recaptación de DA GBR 12909 (Schenk y cols., 2011) y bloqueada por el antagonista de los receptores $5-HT_{2A}$ SR46349B (Orejarena y cols., 2011). Con el paradigma de CPL también se ha observado una reinstauración de la preferencia por la exposición a un “priming” de MDMA (Daza-Losada y cols., 2007; Ribeiro Do Couto y cols., 2011), un efecto en el que parecen intervenir los receptores cannabinoides, ya que el agonista cannabinoide WIN 55,212-2 potencia los efectos de una dosis *priming* de MDMA (Daza-Losada y cols., 2011), y los receptores serotoninérgicos $5-HT_{2B}$, ya que el efecto reinstaurador del MDMA es bloqueado por el antagonista serotoninérgico $5-HT_{2B}$ RS127445 (Doly y cols., 2009).

4.5. Efecto reforzante de la MDMA en humanos.

Prácticamente todos los sujetos que consumen MDMA experimentan efectos emocionales positivos, como euforia o mejora del estado de ánimo (98%), intimidad, ternura/afectuosidad, tranquilidad/calma, disminución de la indefensión, omnipotencia, mayor autoconfianza, esperanza, satisfacción o sentimiento de menor culpabilidad. No obstante, en ocasiones se pueden experimentar efectos negativos (ansiedad o nerviosismo, depresión, temor, paranoia, intranquilidad o inseguridad), especialmente cuando se consumen dosis altas (Baylen y Rosenberg, 2006). Los efectos subjetivos positivos de la MDMA parecen estar relacionados con la activación del sistema dopaminérgico, ya que el antagonista dopaminérgico haloperidol atenúa estos efectos sin afectar otros cambios subjetivos o fisiológicos inducidos por la MDMA (Liechti y cols., 2000b).

Aunque se ha descrito que los efectos placenteros del éxtasis disminuyen con el uso frecuente, parece que el desarrollo de tolerancia es variable. En cuanto a los mecanismos implicados en el desarrollo de la tolerancia a los efectos subjetivos, se

ha apuntado la posible participación de la neurotoxicidad serotoninérgica inducida por MDMA (Parrot, 2005). Así, muchos consumidores describen su primera experiencia como “la mejor”, por lo que tienden a incrementar la dosis, pudiendo llegar a consumir un número elevado de pastillas (Cole y Sumnal, 2003a; Parrot, 2005). Sin embargo, al aumentar la dosis el efecto suele ser una mayor intensidad de los efectos negativos, por lo que algunos individuos aumentan la dosis buscando un mayor efecto, mientras que otros consumidores preferirían mantenerse en dosis moderadas con el objetivo de minimizar los efectos negativos o incluso algunos usuarios pierden el interés por esta sustancia y abandonan su consumo (Topp y cols., 1999). Así, aunque muchos consumidores de MDMA no realizan un uso compulsivo de la droga, existen importantes diferencias en los patrones de consumo (Soar y cols., 2006).

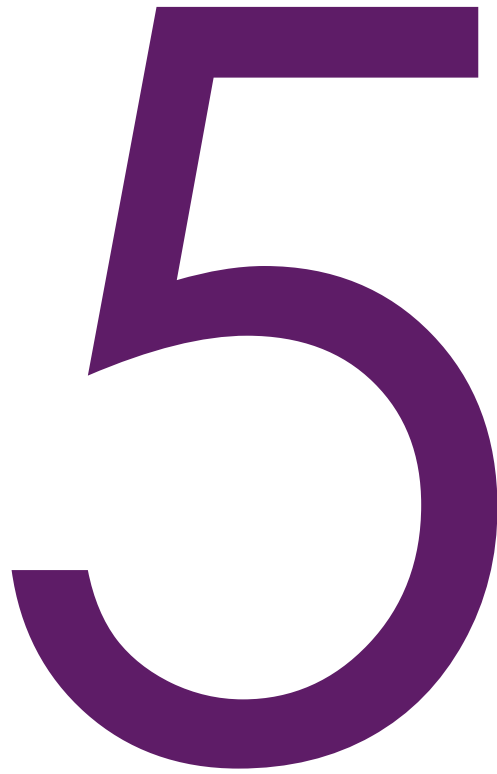
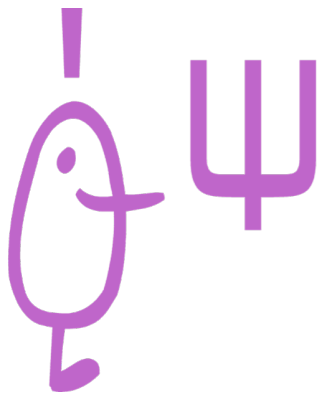
Estudios experimentales realizados con animales y humanos sugieren que el éxtasis posee potencial para producir dependencia. Un estudio reciente ha puesto de manifiesto que muchos consumidores de éxtasis lo consumen frecuentemente, con una gran cantidad de pastillas en al menos una ocasión y consumen MDMA continuamente durante al menos 48 horas en los seis meses previos al estudio (George y cols., 2010). Así, uno de los riesgos asociados al consumo de MDMA es el desarrollo de dependencia (Jansen, 1999; Topp y cols., 1999; Leung y Cottler, 2008; de Almeida y cols., 2009; Bruno y cols., 2009; Leung y cols., 2010). Algunos consumidores cumplen los criterios de abuso y/o dependencia, habiéndose observado una asociación entre el cese del consumo y la aparición de síntomas de abstinencia como fatiga, pérdida de apetito, síntomas de depresión y problemas de concentración (Leung y Cottler, 2008). Sin embargo, se ha sugerido que puede haber algunos aspectos característicos de la dependencia a la MDMA, en comparación a la inducida por otras drogas. En un estudio más reciente se ha evaluado la utilidad de la escala SDS (Severity of Dependence Scale) para identificar consumidores de éxtasis “dependientes”. En general los sujetos dependientes consumen más frecuentemente, en mayores cantidades y realizan más conductas de riesgo, aunque puede haber algunos consumidores dependientes que consumen la droga esporádicamente. Los autores de este estudio sugieren que la SDS tiene validez de constructo como herramienta de rastreo para identificar consumidores de

éxtasis con dependencia aunque la estructura de los síntomas de dependencia difiere para el éxtasis en comparación con otras drogas, lo que puede estar relacionado con los efectos neurotóxicos y entactógenos característicos de la MDMA (Bruno y cols., 2009).

De hecho, tras el consumo continuado de éxtasis la aparición de dependencia puede ser menos probable que en el caso del consumo prolongado de otras drogas. Factores relacionados con los aspectos psicológicos del refuerzo y la dependencia pueden hacer una mayor contribución a la dependencia a la MDMA en comparación con otras drogas, en las que las características físicas de la dependencia son más determinantes (Degenhardt y cols., 2010). En un estudio con consumidores de MDMA (uso más de 5 veces, consumo medio de 50 pastillas) se observó que un 70% de consumidores presentaba criterios de abuso o dependencia, cumpliendo más de la mitad (59%) los criterios de dependencia. El criterio más prevalente de abuso era “uso de la droga en situaciones en que es físicamente peligroso” y los criterios de dependencia más frecuentes eran “uso continuado a pesar de los problemas físicos y psicológicos que ocasiona” (87%) y “abstinencia” (68%); otros dos criterios frecuentes eran “pasar mucho tiempo dedicado a actividades relacionadas con el consumo de MDMA” y “tolerancia”; además un 13% de sujetos había consumido el MDMA para aliviar la abstinencia (Cottler y cols., 2009).

En general se puede concluir que la estructura de la dependencia al éxtasis difiere de la dependencia a otras drogas como alcohol, metanfetamina u opiodes y es más similar a los alucinógenos, observándose una estructura de dos factores: “uso compulsivo” y “consumo en escalada”. Aunque en consumidores de MDMA se observa tolerancia y abstinencia, éstas son menos severas que las producidas por otras drogas y no está claro si se deben a efectos sub-agudos del éxtasis o reflejan procesos neuroadaptativos subyacentes a un verdadero síndrome de abstinencia. En cualquier caso, hay evidencia de que una minoría de consumidores llega a preocuparse por su consumo de MDMA y busca tratamiento (Degenhardt y cols., 2010). En la actualidad no existen opciones farmacológicas eficaces para el tratamiento de la dependencia a MDMA, siendo las psicoterapias cognitivo-conductuales como la prevención de recaídas las únicas intervenciones que han mostrado su eficacia (Informe Observatorio Europeo, 2009).

Metodología



5.1. Condicionamiento de la Preferencia de lugar.

El CPL es un protocolo experimental en el que se emplean animales de laboratorio para estudiar las respuestas motivacionales hacia determinados estímulos (habitualmente drogas) midiendo las respuestas de acercamiento o alejamiento a un ambiente con el que se asocia el estímulo. Los términos empleados en la literatura para referirse a aquello que se mide en el CPL incluyen: recompensa, refuerzo, activación afectiva (arousal afectivo), potencial adictivo, consecuencias o propiedades afectivas, balance afectivo o apetitivo, acercamiento condicionado, preferencia condicionada, comportamiento de búsqueda de la droga, euforia, motivación incentiva, efectos hedónicos, propiedades motivacionales, estado afectivo positivo o naturaleza apetitiva de las drogas (Carr y cols., 1989; Schechter y Calcagnetti, 1993).

Se han identificado dos efectos organizadores del refuerzo sobre la conducta. El más fundamental es que el estímulo reforzante (estímulo incentivo) tiene que tener la capacidad de desencadenar respuestas de acercamiento y mantenimiento del contacto con el estímulo. Otro efecto organizador del refuerzo es la capacidad para incrementar la probabilidad de que las respuestas que le preceden se repitan (Carr y cols., 1989). En el paradigma de CPL, las propiedades motivacionales primarias de un fármaco o de un tratamiento no farmacológico, sirven como estímulos incondicionados (EI) que son repetidamente asociados a un conjunto de estímulos ambientales (previamente neutrales) que adquieren, en el curso del condicionamiento, propiedades motivacionales secundarias; de tal forma pueden actuar como estímulos condicionados provocando acercamiento o evitación cuando el animal es posteriormente expuesto a estos estímulos, en función de si las propiedades motivacionales del tratamiento fueron apetitivas o aversivas. Un aumento en el tiempo pasado en el contexto asociado al EI, en relación al valor control, se toma como evidencia de que el EI es reforzante (Tzschentke, 1998; Bardo y Bevins, 2000).

Los aparatos empleados en el procedimiento de CPL son muy variados, pero el tipo más generalizado es el que se compone de dos compartimentos de iguales dimensiones, separados por un pasillo central, que comunica los dos lados y suele

utilizarse como “compartimento de salida” en los tests de elección. Las puertas del pasillo central se pueden cerrar para impedir el paso de un compartimento a otro en las sesiones de condicionamiento. Estos compartimentos difieren habitualmente en cuanto al color de las paredes y a la textura del suelo. Es importante la elección del estímulo distintivo, ya que debe ser suficientemente saliente como para que el animal aprenda la asociación. Los aparatos de CPL se diferencian principalmente en función del número, forma y tamaño de los compartimentos, color de las paredes y/o el patrón con el que se pintan, textura del suelo, la utilización de claves olfativas, la existencia del pasillo central y la existencia de detectores de posición (Carr y cols., 1989).

Para examinar el papel relativo de la novedad, en ocasiones se han empleado aparatos de tres compartimentos en los que los animales no se exponen a un compartimento hasta el momento del test. En este tipo de estudios, los animales suelen preferir el compartimento asociado a la droga, pero también prefieren el compartimento nuevo en comparación al asociado al salino. Asimismo, se ha utilizado este tipo de aparatos para comparar la robustez del condicionamiento de preferencia inducido por diferentes drogas (por ejemplo, cocaína y morfina).

Por lo general, el procedimiento del CPL se compone de tres fases secuenciales, cada una de ellas, con una duración variable: pre-exposición, condicionamiento y test de preferencia.

5.1.1. Pre-Condicionamiento.

Durante esta primera fase, denominada fase de pre-exposición, de habituación o de pre-condicionamiento (Pre-C), los animales son ubicados en el aparato en ausencia del El y pueden explorar libremente los compartimentos. Esta fase ha variado desde no incluirla en el procedimiento, o componerse de un número variable de sesiones de diferente duración, por ejemplo: desde una sesión de 10 minutos, hasta cinco sesiones de 15 minutos, siendo lo más común, tres sesiones de 15 minutos.

En esta fase se pretenden controlar dos posibles fuentes de artefactos experimentales. En primer lugar, estas sesiones permiten que el animal se familiarice con los aparatos, buscando reducir el estrés derivado de la situación experimental. De hecho, antes de este primer contacto con el aparato, es recomendable que el experimentador manipule a los animales como lo hará durante el experimento. En segundo lugar, en ocasiones se emplean estas sesiones para determinar la preferencia inicial de los animales, antes de administrar el fármaco (EI), y de esta manera comprobar que los resultados obtenidos no se deben a un sesgo inicial en la preferencia. Algunos autores no registran el tiempo en esta primera fase; esta diferencia metodológica explica la utilización de diferentes índices de preferencia, así como de diferentes procedimientos de asignación.

El principal inconveniente de la preexposición al aparato es la posibilidad de interferencia en el establecimiento de la asociación debido a la inhibición latente. En este contexto, la inhibición latente se refiere al hecho de que una exposición previa a los estímulos que serán condicionados, en ausencia del EI, puede retrasar o atenuar el posterior condicionamiento. Así, una preexposición no reforzada al contexto antes del condicionamiento, puede interferir con la posterior adquisición o expresión de una asociación entre el EC y el EI (Carr y cols., 1989). En los estudios con CPL, los investigadores tienen que buscar un equilibrio entre intentar evitar los efectos de la inhibición latente, reduciendo el tiempo de pre-exposición a un mínimo, y tratar de evitar las influencias de la ansiedad o neofobia en los efectos del tratamiento, habituando a los animales al ambiente de condicionamiento (Tzschentke, 1998).

Una importante variación procedimental en los estudios con CPL se refiere al método de asignación de los sujetos a los compartimentos que se van a asociar con los EI, teniendo en cuenta la preferencia inicial, o independientemente de esta. Un aparato de condicionamiento puede diseñarse de forma que los animales sin experiencia previa no presenten una preferencia significativa hacia ninguno de los compartimentos, o puede diseñarse para que los animales prefieran un compartimento (Cunningham y cols., 2003). Además, el sesgo inicial del aparato puede verse afectado por las condiciones experimentales. Roma y Riley (2005) comprobaron que bajo condiciones de luz, ratas hembra Spargue-Dawely, prefirieron el compartimento negro en un aparato de condicionamiento de preferencia de lugar

Metodología.

estándar (blanco y negro). Sin embargo, cuando el procedimiento se realizó en condiciones de oscuridad, los animales no mostraron esta preferencia, por lo que proponen corregir este sesgo eliminando la luz blanca.

En el procedimiento contrabalanceado o no sesgado (unbiased), los sujetos son asignados aleatoriamente a los compartimentos de forma que la mitad de los animales reciben la droga en un compartimento y la otra mitad en el otro. Alternativamente, se realiza la asignación contemplando la preferencia inicial, contrabalanceando la asignación en función de la misma. La otra variación es el procedimiento de asignación fija o procedimiento sesgado (biased), en el cual la droga es constantemente asociada con un compartimento dado. La elección del compartimento suele realizarse en función de la preferencia incondicionada del animal. Habitualmente los animales se condicionan al compartimento inicialmente no preferido, cuando se desea examinar una preferencia condicionada, y al compartimento inicialmente preferido cuando se pretende examinar la aversión.

Los diseños sesgados han sido criticados porque son susceptibles de producir falsos positivos; por ejemplo, si la droga tiene un fuerte componente ansiolítico podría hacer superar la aversión por el compartimento inicialmente no preferido. Por este motivo, se recomienda determinar la preferencia inicial (en base al precondicionamiento), asignando la mitad de los animales al compartimento preferido y la otra mitad al no preferido. Asimismo, la mitad de los sujetos debe recibir el tratamiento en cada compartimento (por ejemplo, blanco vs. negro) y para la mitad de los sujetos que reciben la droga en un compartimento, éste debe ser su compartimento preferido (Tzschentke, 1998).

5.1.2. Condicionamiento.

La segunda fase del CPL es el condicionamiento. Durante esta fase se inyecta a los animales con un fármaco (o se les expone a otro tipo de EI) y se les confina en uno de los compartimentos. El número de asociaciones habitualmente oscila entre una y seis, siendo cuatro lo más común.

Se han investigado diferentes factores que pueden influir en la magnitud de la preferencia condicionada, destacando la relación temporal entre EI-EC, la duración y el número de sesiones de condicionamiento. La duración de los ensayos de condicionamiento es un factor crucial en el diseño de una investigación con CPL. La duración de los ensayos de condicionamiento, debe establecerse principalmente en función de las características del EI. Por ejemplo, Ikemoto y Donahue (2005) examinaron el papel de la duración del ensayo de condicionamiento en el CPL inducido por administración intracraneal de cocaína en el tubérculo olfatorio medial en ratas, observando que sólo aquellas que pasaron 5 minutos en el compartimento asociado con la droga mostraron preferencia, mientras que las que fueron retiradas inmediatamente o estuvieron confinadas 15 minutos en este compartimento, no la mostraron.

La relación temporal entre la administración de la droga y la exposición a los estímulos condicionados también puede tener importantes efectos en los resultados. La mayoría de los investigadores introducen al animal en el compartimento inmediatamente después de la administración o varios minutos después de la misma. Otra diferencia importante en cuanto al protocolo del CPL, se refiere al número de sesiones de condicionamiento que se realizan en un día. Los experimentos con CPL habitualmente implican gran cantidad de ensayos de condicionamiento, por lo que es útil emplear protocolos experimentales que reduzcan el tiempo necesario. Una forma de conseguirlo es reduciendo el número de ensayos; otra forma consiste en realizar dos sesiones de condicionamiento por día. En este caso, hay que asegurarse de que los efectos de la droga de la sesión previa no se arrastren a esta segunda sesión (Tzschentke, 1998). Sin embargo, hay que tener en cuenta que optar por una o dos sesiones al día puede tener consecuencias en los resultados obtenidos. Por ejemplo, en el caso del CPL inducido por MDMA con el protocolo de dos sesiones diarias no se observa la preferencia condicionada en el post-condicionamiento (Post-C), mientras que ésta puede obtenerse realizando una única asociación cada día (Daza-Losada y cols., 2007).

5.1.3. Post-Condicionamiento.

La tercera fase del procedimiento es el test de elección. En esta fase, la posición del animal se registra durante un rango de tiempo que suele oscilar entre 10 y 90 minutos, siendo 15 minutos la duración más común. Aunque habitualmente sólo se realiza un test, algunas veces la preferencia se evalúa durante varios ensayos de extinción en los que los cambios en la preferencia se van atenuando.

Una variación del test concierne a si el animal lo lleva a cabo bajo la influencia de la droga o libre de la misma. El aprendizaje dependiente de estado se refiere al hecho de que un aprendizaje o una respuesta que ha sido aprendida mientras el animal estaba en un cierto estado (por ejemplo, bajo la influencia de una droga) sólo puede recuperarse o reproducirse cuando el animal se encuentra en ese mismo estado. Se ha demostrado en variedad de situaciones que los sujetos recuerdan mejor una tarea cuando son entrenados y realizan el test en el mismo estado (Tzschentke, 1998). Algunos estudios han controlado los efectos de la dependencia de estado llevando a cabo el test con el mismo tratamiento empleado durante el condicionamiento. Una razón que hace pensar que el aprendizaje dependiente de estado no sería un factor determinante en el establecimiento de la preferencia de lugar, es que generalmente se obtienen resultados consistentes cuando el test se lleva a cabo con o sin la influencia de la droga (Carr y cols., 1989).

El momento en el que se realiza el test también es una variable a tener en cuenta. La expresión del CPL puede depender del momento en el que se realiza el test de elección, ya que en algunas especies y/o cepas de animales la preferencia se manifestará cuando el test se realice en el mismo momento circadiano que el condicionamiento, pero no en otros momentos diferentes. Por ejemplo, Cain y cols. (2004) comprobaron que las ratas Long Evans mostraron preferencia tanto si el test se llevaba a cabo en el mismo momento circadiano que las sesiones de condicionamiento, como si éste tenía lugar en un momento diferente, mientras que las ratas Wistar tan solo mostraron preferencia cuando el momento del test y el del entrenamiento coincidieron.

Respecto a la presentación de los datos, la principal variable dependiente en la investigación con CPL es el tiempo pasado en los dos compartimentos. Estos datos pueden presentarse en distintas formas: como el tiempo total o porcentaje de tiempo pasado en cada compartimento, como ratio de la preferencia en función del tiempo pasado en cada compartimento, como el tiempo pasado en el compartimento asociado con la droga, como la diferencia entre el tiempo pasado en el compartimento asociado con la droga y el no asociado, como diferencia entre el tiempo pasado en el compartimento asociado con el EI en el Pre-C y Post-C, o como el número y duración de las entradas en cada compartimento (Carr y cols., 1989).

En la interpretación de los datos generados por el CPL hay que considerar la contribución de la memoria. En el CPL se asume que el animal asociará los efectos del fármaco con los estímulos contextuales y que posteriormente será capaz de recordar esta asociación. Por lo tanto, cuando no se observa una preferencia para un fármaco determinado, esto no indicaría necesariamente una carencia de propiedades recompensantes. Una falta de efecto puede deberse a que el fármaco haya hecho dependiente de estado al condicionamiento de lugar, a una disrupción de la percepción que tiene el animal del contexto a condicionar o también puede deberse a que el fármaco interfiera con los procesos de condicionamiento más que con las propiedades recompensantes de la droga. Si un fármaco deteriora el aprendizaje, también atenuará el CPL, sin tener necesariamente un efecto en la recompensa inducida por la droga (Carr y cols., 1989; Tzschentke, 1998).

En cuanto a la contribución de los efectos motores de las drogas, se sabe que las drogas reforzantes tienden a aumentar la actividad motora. Las respuestas incondicionadas motoras también pueden ser condicionadas y desencadenadas por los EC. Así, se ha sugerido que el incremento incondicionado en la actividad causado por una droga podría ser causante de la preferencia y que un decremento en la actividad podría producir CAL. La tendencia de las drogas reforzantes a aumentar la actividad, sería consistente con este argumento. Sin embargo también hay evidencia que sugiere que los efectos en la actividad no contribuirían significativamente al CPL, ya que existen evidencias de que cuando se bloquea el

efecto estimulante motor de una droga recompensante, los animales continúan mostrando preferencia (Ortmanm, 1985; Mithani y cols., 1986).

5.1.4. Condicionamiento de Preferencia de Lugar y autoadministración.

Desde principios de los años 80 existió desacuerdo sobre si el CPL y la AA representaban dos métodos alternativos para medir un mismo proceso de refuerzo. En un principio, se pensó que eran dos técnicas útiles para medir un mismo proceso denominado recompensa o refuerzo por lo que el CPL sería una mejor alternativa ya que no requería cirugía, era un procedimiento más barato y requería relativamente poco entrenamiento.

Con pocas excepciones, las drogas que se autoadministran también producen preferencia de lugar y viceversa, pero los resultados no siempre son equivalentes ya que los requerimientos de ambas pruebas son diferentes. Sin embargo, habría que tener precaución al realizar la interpretación de dicha discordancia, ya que no es posible demostrar que una droga no producirá CPL o AA bajo ninguna condición y con cualquier dosis (Bardo y Bevins, 2000). En el caso de la AA se necesitan respuestas operantes del animal, pero no en el caso del CPL. Además los efectos motores de algunas drogas pueden interferir en los requerimientos de la prueba de AA (Carr y cols., 1989).

Una importante característica del CPL es que el animal recibe la droga de forma pasiva, al contrario de lo que sucede en la AA. En general, el incremento en la actividad dopaminérgica observado con la AA de drogas estimulantes, se ve atenuada en los animales que reciben la droga de manera pasiva. Por el contrario, en comparación con los animales que se autoadministran la droga, los animales que la reciben de forma pasiva muestran una respuesta dopaminérgica en el N. Acc. más pronunciada, tras la exposición a un estímulo previamente asociado con la administración de anfetamina (Di Ciano y cols., 1998).

Además, ambos modelos evalúan aspectos diferentes del refuerzo, y de la conducta adictiva. El modelo de AA evalúa el efecto reforzante primario de las drogas, mientras

que el CPL estudia las propiedades recompensantes secundarias al refuerzo producido por la droga. Así, la información que nos proporciona la técnica de CPL es distinta de la ofrecida por la AA, siendo ambas técnicas complementarias para la comprensión de los mecanismos implicados en las propiedades reforzantes de las sustancias de abuso (Bardo y Bevins, 2000). Hay que tener en cuenta que el paradigma de CPL es un modelo para el estudio de los procesos de motivación y recompensa; por lo tanto si una droga induce preferencia de lugar, sólo se puede concluir que ésta es potencialmente adictiva, y a la inversa; la ausencia de preferencia no significa que la sustancia sea absolutamente segura respecto a su potencial de abuso.

5.1.5. Ventajas.

Como ventajas más destacables de este paradigma, hay que señalar la rapidez del método, su sensibilidad a bajas dosis de drogas, la posibilidad de realizar el test con o sin el efecto agudo del fármaco, su capacidad para estudiar tanto las propiedades recompensantes como las aversivas y el control de la dosis.

El CPL es una técnica muy sensible a dosis bajas de droga; se trata de una prueba con una sensibilidad mayor a la de otras pruebas conductuales. Por ejemplo, la morfina produce preferencia incluso a dosis sin efectos detectables en locomoción o analgesia. Las dosis más altas también producen una fuerte preferencia, a pesar de que los animales muestren una marcada inmovilidad, con dosis cercanas a las que serían letales para animales sin experiencia previa con esta droga.

Con esta técnica se puede inducir preferencia mediante una sola asociación con la droga, permitiendo una evaluación de las consecuencias afectivas de la primera experiencia con la misma. Por ejemplo, se ha demostrado CPL de un único ensayo con cocaína, morfina y anfetamina. Esta información es útil en el estudio de las condiciones antecedentes relacionadas con el inicio del uso de la droga, ya que la evidencia clínica sugiere que la vulnerabilidad al abuso de una droga estaría relacionada con el grado de refuerzo positivo derivado de la experiencia inicial con la misma. Además, esta característica permite diferenciar los efectos recompensantes

Metodología.

de las drogas, de aquellos derivados de la dependencia física que puede producir la administración repetida. El aprendizaje mediante un solo ensayo, junto con la larga retención, sugiere el poder y la robustez del paradigma CPL para medir las propiedades recompensantes (o aversivas) de una droga.

Como se ha comentado, una de las mayores ventajas del CPL sobre otros métodos para determinar las propiedades motivacionales de las drogas, es su sensibilidad tanto a sus propiedades recompensantes como aversivas. Esto permite una comparación de las propiedades afectivas de las drogas utilizando una única técnica. Esta característica ha permitido estudiar algunas cuestiones importantes en el área de la motivación. Un ejemplo de este tipo de investigaciones sería la realizada por Swerdlow y cols. en 1983, en la que se estudió la influencia de la colecistokinina (CCK) en la conducta de ingesta. La CCK reduce la ingesta de comida en ratas de forma dependiente de la dosis. Estos resultados se podían interpretar de dos formas diferentes; que la CCK indujera saciedad o malestar. Estas dos predicciones son opuestas en relación a las propiedades motivacionales de la CCK. En ratas deprivadas y no deprivadas, se observó un condicionamiento aversivo de lugar inducido por esta sustancia, apoyando la hipótesis del malestar inducido por la CCK. Así, fármacos como la naloxona, el cloruro de litio, la vasopresina o la colecistokinina inducen aversión (Van der Kooy, 1987).

Una de las ventajas más frecuentemente referidas es la posibilidad de realizar el test con el animal en un estado libre de droga. Esto elimina el problema de que la droga produzca cambios sensoriales o motores que puedan confundir e interferir con la medida de la recompensa.

A nivel práctico, otra ventaja del CPL es que no se necesita cirugía para implantar un catéter (necesario en la AA), ya que habitualmente las sustancias se administran por vía intraperitoneal o subcutánea. Esto la convierte en una técnica más barata y asequible.

Una característica importante del CPL es que se puede determinar la actividad motora simultáneamente, incluyendo en el aparato células fotoeléctricas, utilizando un sistema de grabación o contabilizando los cruces entre los compartimentos.

Otra ventaja destacable, es que esta técnica permite un buen control de la dosificación del fármaco. El paradigma de CPL evita la variabilidad inter-sujetos e inter-grupos, observada en otras técnicas, en cuanto a las dosis empleadas.

Una de las grandes ventajas del CPL es que puede emplearse para determinar las propiedades motivacionales de los reforzadores naturales, tales como interacción social en ratas jóvenes, interacción con sus propias crías en ratas hembra, agresión exitosa en ratones, interacción sexual o agresiva en roedores, eyaculación, agua, sacarosa o sacarina y comida.

Por último, cabe señalar su utilidad en el estudio de los circuitos neurales implicados en la motivación y en la recompensa producida por la droga. Mediante estudios de CPL se ha demostrado que los circuitos implicados en la recompensa son diferentes de aquellos implicados en la recaída (Carr y cols., 1989; Bardo y Bevins, 2000).

5.1.6. Limitaciones.

Una de las limitaciones del CPL es la dificultad para generar el tipo de información dosis-efecto normalmente esperada en la farmacología comportamental. Aunque la gradación de las curvas dosis-efecto puede generarse bajo algunas condiciones metodológicas, cada punto de la curva dosis-efecto requiere un grupo independiente de animales. Este acercamiento entre sujetos supone una limitación práctica para el número de dosis de droga que pueden ser testadas. Parte de este problema es el hecho de que los resultados dosis-efecto no se manifiestan hasta el día del test después del condicionamiento, por lo que no se pueden efectuar ajustes de las dosis probadas a medida que el experimento progresa. Esto contrasta con los experimentos que emplean AA, en los cuales los resultados entre sujetos sobre dosis-efecto se obtienen habitualmente a través de sesiones repetidas, y se pueden hacer ajustes de sesión a sesión para caracterizar completamente las porciones gradadas de la curva.

Además, se ha argumentado que el CPL no es particularmente sensible a los cambios en cuanto a las dosis de droga empleadas. Así las curvas dosis-efecto que

se obtienen en el CPL habitualmente, aunque no siempre, parecen más de todo o nada que siguiendo una gradación.

Por otro lado, la tendencia de los animales a preferir uno de los dos contextos del aparato antes de que tenga lugar el condicionamiento, constituye otra limitación. Una fuerte preferencia hacia un contexto crea un dilema en el que el experimentador debe elegir entre dos opciones problemáticas. Asociar la droga con el contexto preferido, podría hacer que no se manifieste la preferencia debido a un efecto techo; asociar la droga al contexto no preferido, podría producir preferencia reduciendo la aversión a aquel contexto más que produciendo una verdadera preferencia. Aunque reducir la aversión a un contexto puede ser un mecanismo por el que drogas ejercen su efecto reforzante, el mejor acercamiento para llevar a cabo los experimentos con CPL es construir un aparato que minimice cualquier sesgo en la preferencia incondicionada hacia cualquier contexto y realizar una asignación contrabalanceada en función de la preferencia inicial.

Una crítica que se le hace al CPL es que no ha sido validado un protocolo para medir la recompensa producida por la drogas ni en humanos, ni en primates no humanos. Sin embargo, se ha establecido que los humanos eligen una píldora previamente asociada con una experiencia de droga sobre una píldora previamente asociada con una experiencia placebo. Los procedimientos realizados con humanos habitualmente miden la elección individual de una droga vs. placebo, bajo condiciones controladas, doble ciego. Las drogas de las que se sabe que se abusa, son también preferidas en estos procedimientos de laboratorio. Para determinar el potencial de abuso de una droga no conocida, la frecuencia de elección se compara con la elección de una droga estándar con un potencial de abuso conocido: esto se toma como un índice de su potencial relativo de abuso (De Wit, 1991).

Otro problema asociado a la amplia utilización de este paradigma, como se ha señalado anteriormente, se refiere a la multitud de variaciones del mismo, dificultando las comparaciones de los datos obtenidos y por lo tanto la generación de conclusiones. Además, la utilización de ciertos procedimientos puede producir resultados engañosos. Así, la asociación del EI con compartimentos que presentan fuertes sesgos en la preferencia incondicionada, la no inclusión de asociaciones

controles con salino en el compartimento alternativo, o la utilización de un procedimiento de asignación fija hacia el compartimento inicialmente no preferido, pueden producir resultados que podrían ser erróneamente atribuidos a un efecto recompensante de la droga. Hay que tener en cuenta que los estudios que contengan estas limitaciones metodológicas pueden reflejar igualmente un efecto recompensante, sin embargo, los resultados estarían abiertos a otras interpretaciones alternativas.

Así, la mayoría de las críticas que ha recibido este paradigma, hacen referencia a cuestiones procedimentales, las cuales en mayor o menor medida han podido ser subsanadas. Un tema pendiente sigue siendo el establecimiento de un protocolo estandarizado que favorezca la comparación de resultados, así como el desarrollo de un modelo equivalente aplicable al estudio con humanos. Controlando todos estos factores procedimentales, el paradigma de CPL puede servir como medida sensible y fiable de las propiedades motivacionales de las drogas u otros reforzadores naturales (Carr y cols., 1989; Bardo y Bevins, 2000).

5.1.7. Aplicaciones del CPL.

Un amplio rango de estímulos puede producir un incremento en la preferencia condicionada por el ambiente al que se han asociado. Por ejemplo el acceso a estímulos apetitivos naturales como comida, agua, bebidas dulces, interacción coespecífica en ratas jóvenes, wheel running, interacción sexual, administración de hormonas, interacción con sus propias crías en ratas hembra, agresión exitosa en ratones y estímulos novedosos pueden condicionar preferencias en roedores. Estas preferencias pueden cambiar en función del estado motivacional; así las ratas con restricción de comida prefieren el contexto previamente asociado con la comida, mientras que las ratas con restricción de agua prefieren un contexto previamente asociado con agua (Tzschentke, 1998). Sin duda, el mayor campo de aplicación de esta técnica ha sido el estudio de las propiedades motivacionales de las drogas. Igualmente, el CPL se ha empleado en el estudio de los efectos aversivos inducidos por la retirada de las drogas.

El estudio de la sensibilización a los efectos de las drogas es relevante ya que presuntamente juega un papel importante en el desarrollo de la adicción. Los cambios comportamentales a largo plazo, en base a repetidas administraciones de droga, son habitualmente medidos en términos de conducta locomotora, aunque existe evidencia de que la sensibilización puede darse también a los efectos reforzantes en base a los estudios de AA y CPL (Tzschentke, 1998).

Mediante el paradigma de CPL también se han estudiado los efectos de tolerancia y sensibilización cruzadas en diferentes sustancias, así como los efectos a largo plazo de la administración prenatal y perinatal de drogas. Por ejemplo, Manzanedo y cols. (2004) encontraron que el pretratamiento con morfina o con un agonista canabinoide produce sensibilización a los efectos reforzantes de la morfina.

Por otro lado, el CPL también resulta apropiado para el estudio de los mecanismos neurales implicados en la recompensa inducida por las drogas. Algunos de los métodos empleados (en combinación con el paradigma de CPL) para este fin han sido los siguientes:

- Atenuación o bloqueo farmacológico de la recompensa de las drogas. Por ejemplo, se ha determinado que la memantina es capaz de prevenir la adquisición de CPL inducido por morfina o cocaína, relacionando de esta forma el sistema glutamatérgico con la recompensa inducida por los opiáceos y los psicoestimulantes (Ribeiro Do Couto y cols., 2004; Maldonado y cols., 2006).
- Localización de áreas cerebrales específicas mediante microinyecciones de fármacos que pueden utilizarse para inducir CPL. Mediante estas técnicas se ha destacado el papel del ATV y el N. Acc. como las principales regiones implicadas en la recompensa inducida por las drogas (McBride y cols., 1999).
- Lesión selectiva de vías neurales: empleando 6-Hidroxidopamina (6-OHDA), lesiones excitotóxicas (por ácido iboténico, kaínico o quinolínico), lesiones electrolíticas, por radiofrecuencia o ablaciones (Tzschentke, 1998).

El CPL también se ha aplicado como modelo animal de la recaída en el consumo de drogas. La reinstauración de la preferencia inducida por drogas tras un periodo en el que esta respuesta se había extinguido, se ha empleado como modelo para tal fin. El uso del CPL como modelo de recaída se comentará en el siguiente apartado.

5.2. Reinstauración de la búsqueda de droga.

La alta tasa de recaídas en el consumo de drogas tras largos periodos de abstinencia es el problema clínico más importante en el tratamiento de la adicción a drogas (O'Brien, 1997). Esta tendencia a la recaída sugiere que las drogas de abuso producen cambios permanentes en el cerebro (Nestler, 2004). En las últimas décadas el estudio de los factores que subyacen a la recaída ha tomado cada vez una mayor importancia.

Empleando animales de laboratorio, es posible estudiar la recaída mediante el modelo de reinstauración. El modelo de reinstauración se refiere a la reanudación o reactivación de una respuesta aprendida y posteriormente extinguida, después de la exposición no contingente a diferentes estímulos (Carrol y Comer, 1996). El fenómeno de la reinstauración de las conductas aprendidas tras su extinción se describe ya en los primeros trabajos de condicionamiento clásico y operante (Shaham y cols., 2003). Por ejemplo, Pavlov describe el "efecto *priming*" de la re-exposición al El tras la extinción, en perros entrenados en un estudio de condicionamiento clásico (Pavlov, 1927). Usando el paradigma operante, Skinner observa la reinstauración de la conducta de presionar una palanca en ratas mediante la presentación no contingente de comida y agua (Skinner, 1938).

Con este modelo se ha observado que los mismos factores que provocan la recaída en humanos son capaces de desencadenar la reinstauración de la conducta de búsqueda de droga. La exposición a la droga, la exposición a estímulos contextuales asociados a la droga, así como la exposición a situaciones estresantes son capaces de reinstaurar esta conducta (Shaham y cols., 2003; Shalev y cols., 2002; Weis, 2005; Epstein y cols., 2006; Tzschentke, 2007).

Existen dos variaciones principales del modelo de reinstauración, una basada en la AA operante, y la otra basada en el CPL.

5.2.1. Reinstauración de la autoadministración.

El modelo animal más empleado en el estudio de la recaída es el modelo de reinstauración de la AA. En este modelo se entrena a los animales para presionar una palanca que les proporciona infusiones intravenosas de droga, en cajas de condicionamiento operante. Posteriormente, esta palanca se desconecta de la bomba de infusión, o alternativamente la droga es sustituida por infusiones de suero fisiológico. De esta forma, la conducta de presionar la palanca es progresivamente extinguida ya que su ejecución no tiene consecuencias para el organismo. Posteriormente se evalúa la capacidad de la exposición a la droga, a estímulos previamente asociados o al estrés, para restablecer la conducta de búsqueda de droga. Esta búsqueda se expresa en la reaparición de la conducta de presionar la palanca, aunque esta ya no proporcione la infusión de droga (De Wit y Stewart, 1981, 1983; Stewart y de Wit, 1987). La reexposición a la droga, a claves ambientales previamente asociadas a ésta, o a un evento estresante, desencadena la reinstauración de la búsqueda de la droga (revisiones: Shaham y cols., 2003; Shalev y cols., 2002; Weiss, 2005).

En las sesiones de test, la reinstauración de la respuesta de presionar la palanca se define como una respuesta significativamente mayor sobre la palanca asociada previamente con la infusión de droga (palanca activa) tras la exposición a diferentes manipulaciones experimentales, en comparación con las manipulaciones de control. Utilizando este modelo, diversos autores han demostrado que la re-exposición a la droga previamente empleada durante el condicionamiento produce el restablecimiento de la preferencia de lugar previamente extinguida (Parker y McDonald, 2000; Wang y cols., 2000, 2002; Manzanedo y cols., 2001; Lu y cols., 2002; Mueller y cols., 2002; Leri y Rizos, 2005; Sakoori y Murphy, 2005; Shoblock y cols., 2005).

Una de las principales críticas que ha recibido este modelo es que no imita las situaciones que conducen a la abstinencia en humanos, que raramente va precedida por la eliminación de la conducta de búsqueda a través de un proceso de extinción (Marlatt, 1996; Bergman y Katz, 1998; Epstein y Preston, 2003). Además, basándose en los datos que demuestran diferentes efectos conductuales y

neuroquímicos de las administraciones de droga contingentes vs. no contingentes (Dworking y cols., 1995; Hemby y cols., 1997; Markou y cols., 1999), se ha alegado que el efecto de las inyecciones primming utilizadas en este modelo pueden no ser relevantes para la adicción (Everitt y Robins, 2000).

Otro importante factor a tener en cuenta en los estudios de reinstauración de la AA es la interpretación de los resultados obtenidos en los trabajos en los que se realizan tratamientos farmacológicos u otras manipulaciones antes de las pruebas de reinstauración. En estos casos habría que descartar que los efectos no específicos de tales manipulaciones (por ejemplo activación o supresión motora) no son los responsables de los cambios en la conducta de presionar la palanca.

A pesar de estas limitaciones, el modelo de reinstauración tiene ofrece información útil ya que las condiciones que establecen la búsqueda de droga en animales de laboratorio, provocan igualmente la recaída en humanos (Shalev y cols., 2002).

5.2.2. Reinstauración de la preferencia de lugar condicionada.

Más recientemente se ha desarrollado el modelo de reinstauración con el paradigma de CPL (Mueller y Stewart, 2000; Parker y McDonald, 2000; Wang y cols., 2000; Lu y cols., 2000; Manzanedo y cols., 2001). En este modelo, después de establecer el condicionamiento, la preferencia es progresivamente extinguida mediante sesiones adicionales en las que se expone a los animales al contexto asociado con la droga sin estar ésta presente (Shalev y cols., 2002; Epstein y cols, 2006). Esto se puede realizar mediante sesiones de condicionamiento empleando suero fisiológico, o bien colocando a los animales permitiéndoles el acceso a todo el aparato sin recibir ninguna inyección, repitiéndose este procedimiento hasta que el tiempo transcurrido en el compartimento asociado con la droga sea similar al tiempo registrado en el Pre-C. Habitualmente se informa de la existencia de diferencias significativas entre el tiempo en el compartimento asociado en la extinción y el Post-C. Sin embargo, en algunos estudios consideran extinguida la preferencia cuando dejan de observarse diferencias en el tiempo pasado en los compartimentos asociados con la droga o

vehículo, o cuando los animales pasan menos del 55% del tiempo total de prueba en el compartimento asociado, durante dos días consecutivos (Aguilar y cols., 2009).

Una vez extinguida la preferencia, inyecciones de la droga previamente administrada o la exposición a condiciones estresantes son capaces de reinstaurar la preferencia de lugar (Mueller y Stewart, 2000; Parker y McDonald, 2000; Wang y cols., 2000; Lu y cols., 2000; Manzanedo y cols., 2001). Una ventaja del modelo de reinstauración del CPL es que la interferencia de los efectos motores de la droga es menos probable, ya que no se requiere una conducta operante como en el modelo de AA. Sin embargo, una limitación de este modelo para el estudio de la recaída es que la cantidad total de droga que es administrada a los animales es relativamente baja, limitando este hecho la relevancia del modelo para el estudio del uso compulsivo y crónico de drogas.

Además de la reinstauración, se pueden emplear otros métodos para el estudio de la recaída empleando el CPL, como la readquisición y la recuperación espontánea (Aguilar y cols., 2009).

5.2.3. Diferencias entre ambos modelos de reinstauración.

Como se ha comentado, la AA y el CPL evalúan aspectos diferentes del refuerzo y con ello, diferentes características de la recaída y la conducta adictiva. La AA implica condicionamiento operante, y modela la conducta de consumo de drogas, mientras que el CPL implica condicionamiento pavloviano, modela la conducta de consumo de drogas desencadenada por el contexto y determina el valor incentivo de las claves asociadas a la droga para mantener la conducta adictiva. La reinstauración de la AA implica la restauración de una respuesta operante concreta, mientras que la reinstauración del CPL consiste en la reaparición de la conducta de acercamiento al contexto asociado con la droga.

Algunas diferencias entre ambos modelos incluyen los efectos de dosis bajas de droga, la relación de contingencia de la administración de la droga y el tipo de extinción empleada. Mientras que es difícil reinstaurar un CPL inducido por dosis

bajas de droga mediante priming (Orsini y cols., 2008), en un estudio se ha informado de una reinstauración más pronunciada tras sesiones de AA con dosis bajas en comparación con las sesiones en las que se emplearon dosis mayores (Keiffin y cols., 2008). Además en las sesiones de AA la administración de la droga es contingente, mientras que en el CPL no lo es. Varios estudios han demostrado diferencias en los efectos a largo plazo de la administración contingente vs. no contingente (Jacobs y cols., 2005), lo que podría explicar en parte algunas discrepancias en los datos generados por ambos modelos. Además, el procedimiento basado en AA en ocasiones implica la extinción y reinstauración de la conducta en una única sesión, mientras que en la reinstauración del CPL esto tiene lugar durante varios días.

El hecho de que la droga sea administrada por el experimentador y que la exposición total a la droga es generalmente baja, son factores que limitan la relevancia de la versión de CPL en el modelo de reinstauración para el estudio del uso compulsivo y crónico de drogas. Otra limitación es la falta de estudios que evalúen la reinstauración inducida por claves o contextos asociados a la droga. Al evaluar el CPL la capacidad del contexto asociado para desencadenar la conducta de búsqueda de droga, se hace difícil discriminar entre el efecto de la reexposición al ambiente y el efecto de la droga o el estrés, aunque algún trabajo ha tratado de superar esta limitación (Itzhak y cols., 2010).

La versión basada en el CPL ofrece algunas ventajas como un procedimiento relativamente menos costoso en comparación con el basado en la AA, además de ser más rápido, no invasivo y menos complicado. Además, los efectos motores de los fármacos producen menos interferencia.

Esta versión del modelo de reinstauración de la búsqueda de la droga, posee una buena validez de criterio, es decir, los datos generados con animales de laboratorio predicen la conducta desencadenada por eventos similares en humanos (Geyer y Markou, 1995; Epstein y cols., 2006). Algunas condiciones que provocan craving y recaída en humanos, como la reexposición a la droga (de Witt, 1996) y el estrés (Sinha, 2001), inducen reinstauración del CPL. Sin embargo, esta versión tiene una pobre validez de constructo, lo que se refiere a la semejanza entre los mecanismos

subyacentes a la conducta en el modelo y la condición modelada (Geyer y Markou, 1995; Epstein y cols., 2006). Existe una falta de concordancia entre la situación en el modelo y la situación real en humanos. Por ejemplo, la abstinencia de la droga ocurre por motivos diferentes, y no hay un paralelismo con el efecto priming de una droga administrada de forma no contingente.

5.2.4. Mecanismos implicados en la reinstauración de la búsqueda de drogas.

Estudios de laboratorio en humanos han demostrado que la exposición a la droga incrementa el deseo de consumirla ("craving") y la conducta de consumo de droga. El modelo de la reinstauración de la búsqueda de la droga mediante una inyección priming es un método reconocido como fiable para el estudio de los mecanismos implicados en el craving y la recaída (De Vires y cols., 1998; Shalev y cols., 2002). Este efecto ha podido observarse en modelos animales con diferentes drogas como opiáceos (Manzanedo y cols., 2001; Ribeiro Do Couto y cols., 2006), cocaína (Maldonado y cols., 2006, 2007), alcohol (Font y cols., 2008), nicotina (Biala y Budzynska, 2008), MDMA (Daza-Losada y cols., 2007) o anfetamina (Cruz y cols., 2008). Además, puede observarse reinstauración cruzada entre opioides, psicoestimulantes y otras drogas de abuso (Aguilar y cols., 2009).

El efecto priming de la exposición a la droga puede atribuirse a sus propiedades hedónicas, que producen un estado motivacional incentivador que desencadena el craving y promueve que los animales busquen los estímulos ambientales asociados con la droga, reinstaurando así la preferencia condicionada. Según Mueller y Stewart (2000), las inyecciones "priming" recuerdan al animal el significado de los estímulos o claves contextuales previamente asociados con los efectos reforzantes de la droga. Así, esta conducta de acercamiento puede reflejar la reinstauración del craving que hace que el animal busque nuevamente el ambiente asociado a la droga.

Otra explicación alternativa para el efecto priming de la reexposición a la droga en la reinstauración de la preferencia condicionada puede referirse a las propiedades discriminativas de la misma. El restablecimiento de la preferencia condicionada o de la AA podrá deberse a un fenómeno dependiente de estado, sin embargo esta

posibilidad no parece probable. De hecho en el Post-C los animales muestran preferencia sin estar bajo el efecto de la droga. Además, los sustratos neurales que median los efectos discriminativos (Jaeger y van der Kooy, 1996) son diferentes de los implicados en la reinstauración inducida por droga (Shaham y cols., 2003; Shalev y cols., 2002). De hecho, en los estudios de discriminación de drogas sólo se observa generalización entre drogas de la misma clase farmacológica (Stolerman y cols., 1995), mientras que puede observarse reinstauración cruzada entre drogas de diferente clase, o reinstauración inducida por estímulos diferentes de la droga como el estrés o u otros estímulos asociados.

Sin embargo, la explicación de la dependencia de estado no puede descartarse ya que esto puede afectar al aprendizaje que ocurre durante la extinción, que tiene lugar en un estado diferente de los del condicionamiento y la reinstauración. Así, el cloruro de litio reinstaura la aversión de lugar inducida por este mismo compuesto (Parker y McDonald, 2000) y la abstinencia a la morfina reinstaura la aversión de lugar que esta experiencia induce (Li y cols., 2007). Por estos motivos no está claro si la reinstauración se produce por un cambio en el valor incentivo del ambiente previamente asociado a la droga, en el estado motivacional del animal, o a un aprendizaje dependiente de estado.

Otra limitación de este modelo, es que los fármacos se administran de forma aguda, mientras que en los ensayos clínicos, estos se administran de forma crónica. Por este motivo, fármacos que bloquean la reinstauración en el CPL pueden producir efectos diferentes cuando se administran de forma crónica en humanos para prevenir la recaída.

El proceso de aprendizaje asociativo, por el que los estímulos ambientales repetidamente asociados con el consumo de la droga adquieren un valor motivacional incentivo, evocando la expectación de la disponibilidad de la droga y la memoria de la euforia inducida por la droga es crítico para el "*craving*" y la recaída (Weiss, 2005). Así, estímulos ambientales previamente asociados con infusiones de morfina reinstauran la búsqueda de la droga en monos rhesus o ratas cuando la extinción de la conducta de presionar la palanca se había realizado en ausencia de estas señales (Schuster y Woods, 1968; Golberg, 1976; Davis y Smith, 1976).

Diversos autores sostienen que el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico está involucrado en la reinstauración de estas conductas mediante la reexposición a la droga (Shalev y cols., 2002), afectando la motivación incentiva y la conducta apetitiva dirigida a un objetivo (Wang y cols., 2000). Así, las inyecciones “priming” activarían el sistema dopaminérgico mesolímbico, produciendo la liberación de DA, lo cual podría ser el mecanismo subyacente a la recaída. Las estructuras DA mesolímbicas parecen esenciales en la reinstauración del CPL inducido por en ratas, ya que la lesión electrolítica del ATV, N. Acc o la corteza del N. Acc, bloquea la reactivación del CPL inducido por un priming de morfina (Wang y cols., 2002). Sin embargo, la reinstauración de la búsqueda de morfina no se altera tras la administración de antagonistas DA o un inhibidor de la liberación de DA (Ribeiro Do Couto y cols., 2005c). Estas diferencias pueden deberse a las diferentes metodologías empleadas. El efecto de los antagonistas puede ser diferente del de las lesiones electrolíticas, con las que además de la destrucción de los cuerpos neuronales, pueden dañarse axones provenientes de otras áreas, implicando así a otros sistemas de neurotransmisión. Así, es posible que proyecciones no dopaminérgicas con destino en el ATV o eferencias desde el N. Acc. sean más importantes que la neurotransmisión dopaminérgica entre estas estructuras (Aguilar y cols., 2009)

El sistema glutamatérgico juega un papel esencial en la reinstauración del CPL inducido por opiáceos, cocaína o amfetamina (Ribeiro Do Couto y cols., 2005; Popik y cols., 2005; Maldonado y cols., 2007; Cruz y cols., 2008). Sin embargo, este efecto puede deberse a una interferencia en la capacidad de la droga de recordar al animal las asociaciones aprendidas durante el condicionamiento ya que estos antagonistas alteran la memoria en diferentes pruebas conductuales (Riedel y cols., 2003). En concreto, estos efectos parecen relacionados con interferencias en el proceso de reconsolidación (Kelley y cols., 2007).

En cuanto al sistema opioide, el receptor ORL-1, activado por el péptido nociceptina/orfanina FQ, parece implicado en la reinstauración del CPL inducido por morfina, aunque no está claro si atenúa las propiedades reforzantes de la morfina o interfiere con el aprendizaje asociativo (Shoblock y cols., 2005)

Otros sistemas de neurotransmisión como el noradrenérgico, serotoninérgico o cannabinoide han sido relacionados con la reinstauración de la búsqueda de la droga.

Se ha sugerido que las inyecciones "priming" de droga restauran la conducta de búsqueda de droga porque activan los mismos sistemas cerebrales implicados en sus propiedades de estímulo discriminativo o en sus efectos reforzantes. Sin embargo, parece que se pueden disociar, al menos en parte estos mecanismos. Por ejemplo, en los estudios de discriminación se observa generalización sólo con drogas de la misma clase (Stolerman y cols., 1995), mientras que se ha observado reinstauración de la búsqueda de drogas con fármacos de diferente clases (Davis y Smith, 1976; De Vires y cols., 1999). Además, las inyecciones de morfina en el ATV no sustituyen a la heroína en un procedimiento de discriminación (Jaeger y van der Kooy, 1996) pero restauran la búsqueda de heroína (Stewart, 1984). Igualmente, los antagonistas DA no tienen efectos sobre la AA de heroína, pero atenúan la reinstauración inducida por esta droga (Shaham y Stewart, 1996; McFarland y Ettenberg, 1997).

La reinstauración cruzada inducida por una droga diferente de la autoadministrada o la empleada en el CPL ha sido observada con diferentes clases de drogas. Por ejemplo, la administración de agonistas indirectos de la DA como la cocaína o la amfetamina restablecen la búsqueda de heroína en el modelo de AA (De Vires y cols., 1998, 1999). En el modelo de reinstauración de la preferencia condicionada, también se ha observado recaída cruzada (Romieu y cols., 2004).

Wang y cols. (2002) han sugerido que los opiáceos y los psicoestimulantes podrían activar el sistema dopaminérgico mesolímbico, produciendo la liberación de DA, lo cual podría ser el mecanismo común subyacente a la reincidencia de la búsqueda de droga inducida por morfina, cocaína o amfetamina. Es posible que una droga pueda incitar la recaída de otra droga por esta vía común (Wang y cols., 2000) y que está involucrada en la motivación incentiva y en el comportamiento apetitivo directo del consumo de droga.

La presentación de claves discriminativas ambientales en los tests de reinstauración, como por ejemplo, un sonido o un olor, que predecían la disponibilidad de droga durante la fase de entrenamiento en AA, desencadenan la reinstauración de la conducta de búsqueda de la droga (Ettenger y cols., 1996; McFarland y Ettenberg, 1997; Gracy y cols., 2000; Weiss y cols., 2000; Grasing y cols., 2005). Las estructuras involucradas en la recaída inducida por claves o estímulos ambientales asociados con la droga serían la corteza orbito-frontal, el córtex cingulado anterior, el córtex prelímbico, la amígdala basolateral, el núcleo central de la amígdala, el hipocampo, el N. Acc., el estriado dorsal, el núcleo del lecho de la estría terminal, el hipotálamo lateral, el ATV y el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (Weiss, 2005).

La preferencia condicionada, una vez extinguida, puede reinstaurarse con dosis menores que las empleadas en el condicionamiento, lo que sugiere que la sensibilización a los efectos de la droga podría contribuir a la reinstauración mediante priming. Así, en varios estudios, el tiempo pasado en el compartimento asociado tras la administración de un priming con cocaína o morfina fue significativamente mayor que el observado en el Post-C (Ribeiro Do Couto y cols., 2003, 2005c; Szumlinski y cols., 2002), lo que podría explicarse como una sensibilización a los efectos reforzantes de estas drogas. Además, se ha observado reinstauración del CPL tras la administración de dosis decrecientes de morfina, incluso a dosis inefectivas en animales sin experiencia previa de reinstauración (Ribeiro y cols., 2005a).

- Reinstauración inducida por estrés.

La exposición al estrés parece ser un factor determinante en el abuso de drogas. La exposición al estrés incrementa los efectos reforzantes de diferentes drogas (Will y cols., 1998, 2004; Der-Avakian y cols., 2005) y tiene un papel esencial en la recaída (Sinha, 2001; Lu y cols., 2003). Se han empleado diferentes situaciones estresantes para estudiar este efecto, como por ejemplo, descargas eléctricas en las patas, inmovilización, pinzamiento de la cola, natación forzada o la experiencia de derrota en un encuentro social (Aguilar y cols., 2008). Sin embargo, el estado de activación inducido por la exposición a un estímulo apetitivo, como el acceso a una hembra receptiva, no tiene efecto en la reinstauración de la búsqueda de heroína, indicando que esta activación por sí misma, no explicaría el efecto del estrés en la recaída

(Shaham y cols., 1997). Tampoco la exposición a un ambiente nuevo tiene efectos en el restablecimiento de la AA (Shalev y cols., 2000). Igualmente, se ha observado que las descargas eléctricas en las patas y la inmovilización no tienen efectos en el restablecimiento de la AA de heroína en ratas cuando estos factores estresantes son aplicados de forma no contingente al ambiente de la AA (Shalev y cols., 2000). Estos hallazgos sugieren que en el paradigma de AA, los efectos del estrés sobre el restablecimiento de la búsqueda de la droga dependen del contexto y del tiempo en el que éste ocurre (Shalev y cols., 2002).

Varios mecanismos se han propuesto para explicar los efectos reinstauradores del estrés (Shalev y cols., 2002), como la activación del sistema DA mesocorticolímbico (Shaham y Stewart, 1995), interferencia con mecanismos neurales inhibitorios como el septum medial (Highfield y cols., 2000) y la inducción de un estado similar al de la abstinencia (Whitehead, 1974; Wang y cols., 2000). Los resultados provenientes del paradigma de AA desafían esta idea; solo la abstinencia espontánea, pero no la precipitada mediante antagonistas reinstaura la búsqueda de heroína; mientras que el estrés es capaz de reinstaurar la búsqueda de droga en animales que habían recibido una dosis de heroína (Shaham y Stewart, 1995; Shaham y cols., 1996). Al contrario, el CPL inducido por morfina puede reinstaurarse mediante una abstinencia condicionada, lo cual sería una situación estresante (Lu y cols., 2005).

La reinstauración inducida por estrés o por la exposición a drogas parece mediada por mecanismos diferentes. El circuito CPFm → ATV → corteza del N. Acc parece crítico en la reinstauración mediada por el estrés, mientras que la conexión directa desde el CPFm a la corteza del N. Acc parece esencial en la reinstauración inducida por cocaína (Sanchez y cols., 2003). Además, la reinstauración inducida por estrés se acompaña de la fosforilación de la proteína de unión al elemento de respuesta al AMP cíclico (CREB) en áreas cerebrales concretas, lo cual difiere de lo observado tras la reinstauración inducida por cocaína (Kreibich y Blendy, 2004). De forma similar, ratones deficientes en las isoformas alfa y beta de la proteína CREB muestran alteraciones en la reinstauración inducida por estrés, pero no por cocaína (Kreibich y Blendy, 2004).

Varios sistemas de neurotransmisión y diversas estructuras del cerebro están implicados en las bases de la reinstauración de la búsqueda de la droga inducida por estrés. Se ha observado que la exposición a ciertos factores estresantes activa sistemas opioides endógenos. Así, el estrés inducido por las descargas eléctricas puede inducir recaída a través de la liberación de opioides endógenos que activarían los receptores μ . Sin embargo, la naltrexona ni la heroína tuvieron efecto en el restablecimiento de la AA inducida por estrés (Shaham y Stewart, 1996; Shaham y cols., 1996), por lo que parece que la reinstauración de la búsqueda de la droga inducida por estrés es independiente de la acción del factor estresante en el sistema opioide endógeno (Shalev y cols., 2002).

La exposición a varios factores estresantes también activa el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico y se ha hipotetizado que la activación de este sistema podría estar involucrada en la reinstauración inducida por estrés. De acuerdo con esto, se ha observado que el flupentixol, un antagonista poco selectivo de los receptores dopaminérgicos, atenúa la reinstauración de la AA inducida por estrés (Shaham y Stewart, 1996). Sin embargo, ni un antagonista selectivo D_1 (SCH 23390) ni un antagonista selectivo D_2 (raclopride) tienen efectos en la reinstauración inducida por estrés (Shaham y Stewart, 1996). Estos estudios, sugieren que la neurotransmisión DA sólo tendría un papel indirecto, posiblemente de tipo modulador, en la reinstauración de la búsqueda de la droga inducida por estrés (Shaham y cols., 2000a). Aunque el tono basal dopaminérgico puede ser requerido para la expresión del restablecimiento inducido por estrés, es difícil que el sistema DA sea un sustrato crítico y principal para este efecto (Shalev y cols., 2002).

La exposición a factores estresantes induce la liberación de hormonas relacionadas con el estrés, como el factor liberador de corticotropina (CRF, por sus siglas en inglés) y la corticosterona. En el paradigma de la reinstauración de la AA, la manipulación de los niveles de corticosterona no afectó a la reinstauración de la búsqueda de heroína inducida por estrés (Shaham y cols., 1997), mientras que las administraciones agudas de CRF inducen la reinstauración de la búsqueda de heroína y antagonistas del receptor para el CRF atenúan esta conducta (Shaham y cols., 1997a; 1998).

En el paradigma de la reinstauración de la preferencia condicionada, los antagonistas del receptor CRF, pero no los del receptor CRF tipo 2, atenúan la reactivación de esta preferencia inducida por descargas en las patas de los animales (Lu y cols., 2000, 2001). Este efecto inhibitorio de la reinstauración inducida por estrés ha sido observado en el CPL inducido por morfina y cocaína.

Dos áreas cerebrales se han involucrado en la respuesta al estrés y en los efectos conductuales del CRF: el núcleo del lecho de la estría terminal (BNST) y la amígdala central.

Los factores estresantes también activan neuronas noradrenérgicas que median respuestas psicológicas y fisiológicas al estrés. Así se ha observado que la clonidina, un agonista de los autoreceptores α_2 , atenúa la reinstauración de la búsqueda de heroína inducida por estrés (Shaham y cols., 2000b). Los sistemas noradrenérgico y del CRF pueden interactuar en la mediación de la reinstauración inducida por estrés, al menos en el BNST donde las neuronas tegmentales laterales hacen sinapsis con neuronas que contienen CRF (Phelix y cols., 1994).

Así, parece haber dos sistemas de neurotransmisión y dos estructuras cerebrales involucradas de forma decisiva en la reinstauración inducida por estrés. El sistema de CRF del BNST, incluyendo una proyección de neuronas que contienen CRF, desde la amígdala central al BNST, y otro sistema involucra al sistema noradrenérgico con axones del fascículo noradrenérgico ventral que se originan en los grupos celulares tegmentales noradrenérgicos e inervan la amígdala central y el BNST (Shaham y cols., 2000b).

Se han propuesto varias explicaciones sobre los mecanismos subyacentes al efecto del estrés inducido por las descargas eléctricas en la reinstauración de la búsqueda de la droga (Shalev y cols., 2002). Se propone que la activación del sistema dopaminérgico mesocorticolímbico por factores estresantes puede estar implicada en este efecto (Shaham y Stewart, 1995). Sin embargo, hay evidencias en contra de esta hipótesis. Las descargas eléctricas intermitentes son a menudo, un estímulo más efectivo para la reinstauración que los primings de droga (Shaham, 1996), pero son menos efectivas para inducir la liberación de DA en el N. Acc (Shaham y Stewart,

1996). Además, hay una clara disociación farmacológica y anatómica entre la reinstauración inducida por descargas eléctricas y la reinstauración mediante priming con droga (Shaham y cols., 2000a).

Otra explicación para el efecto del estrés sobre la reinstauración de la búsqueda de la droga propone que las situaciones estresantes producirían un estado similar al síndrome de abstinencia (Whitehead, 1974). Sin embargo, los resultados experimentales no respaldan esa idea, ya que el síndrome de abstinencia inducido por naloxona no conduce a la reinstauración de la búsqueda de heroína (Shaham y cols., 1996), y el estrés puede restablecer la búsqueda de heroína aunque los animales reciban una dosis de mantenimiento de heroína (Shaham y cols., 1996). Por el contrario, en un estudio con CPL se observó que a pesar de que la precipitación del síndrome de abstinencia con naloxona no tuvo efectos en la reinstauración de la preferencia, la exposición a estímulos asociados con la abstinencia sí que reinstauró la preferencia, produciendo además signos de abstinencia a la morfina, así como un incremento en los niveles de corticosterona. Estos efectos se atenuaron administrando un antagonista no selectivo de los receptores CRF.

También se ha sugerido que el estrés puede provocar recaída interfiriendo con los procesos encargados de inhibir una respuesta cuando los reforzadores no están disponibles. De acuerdo con esto, se ha observado que el estrés inducido por descargas eléctricas aumentó la resistencia a la extinción y que los efectos de este tipo de estrés en la reinstauración se relacionan con el septum medial, un área involucrada en la inhibición de respuestas (Highfield y cols., 2000). Además, se propone que las exposiciones repetidas a las drogas producirían una sensibilización o neuroadaptaciones en los sistemas cerebrales implicados en la respuesta al estrés.

5.2.5. Relevancia de los hallazgos para la recaída en humanos.

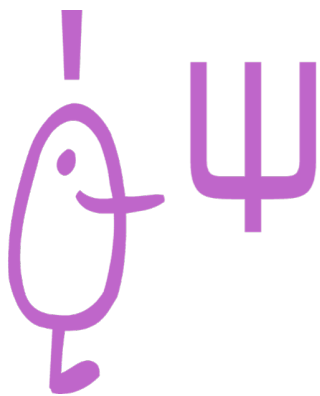
El principal reto en el manejo y tratamiento de la adicción a drogas es el desarrollo de tratamientos farmacológicos que disminuyan el craving y con ello la vulnerabilidad a la recaída. Los resultados obtenidos con estos modelos apoyan la idea de que los

mecanismos biológicos implicados en la reinstauración no están necesariamente asociados con los que median el refuerzo de las drogas (Shalev y cols., 2002).

Actualmente existen diferentes tipos de medicación anticraving, como la naltrexona en el caso del alcoholismo, el bupropión y la vareniclina para el tabaquismo y la metadona y buprenorfina para la adicción a la heroína (van der Brink y van Ree, 2003; Stimmel, 2012), aunque la eficacia de estos tratamientos es limitada, y es necesario desarrollar nuevos tratamientos con mayor acción terapéutica y menos efectos secundarios.

Se han estudiado diferentes condiciones facilitadoras y protectoras de la recaída, por ejemplo las condiciones de alojamiento y crianza, la oportunidad de interacción sexual, el estrés, la administración de pequeñas dosis de la droga, etc. Por ejemplo, Sánchez y cols. en 2001 estudiaron la influencia del miedo en la reinstauración de la preferencia condicionada por la cocaína en ratas Spargue-Dawley. En este estudio se observó que, tras la extinción, la presentación de estímulos previamente asociados con una descarga eléctrica, produjeron un mayor grado de reinstauración de la preferencia en el grupo que recibió el shock en presencia de una señal que anunciaba su aparición, en comparación con el grupo que recibió la descarga sin esta asociación.

Justificación



Como hemos visto, aunque la MDMA no es una droga con un elevado potencial de abuso, los datos provenientes de investigaciones con animales señalan que funciona como un reforzador en diferentes modelos animales, y los trabajos en humanos indican que algunos consumidores cumplen los criterios para abuso y dependencia. Además, como hemos visto en el apartado sobre la epidemiología, los adolescentes y jóvenes adultos son los principales consumidores de esta sustancia.

El estudio de las drogas de abuso es complejo ya que a sus efectos contribuyen diferentes variables como el patrón de consumo, la duración del mismo, la historia previa de consumo, la pureza de las sustancias consumidas o la interacción con otras drogas. Además, al ser una droga incluida en la Lista I de la OMS, que puede producir efectos neurotóxicos a largo plazo, motivos éticos impiden la realización de ensayos doble-ciego con amplias muestras de participantes, empleando dosis repetidas y controlados con placebo. Así, es importante el empleo de modelos animales, en nuestro caso ratones adolescentes, ya que esto nos permite un mayor grado de control experimental.

En nuestro laboratorio hemos realizado diferentes trabajos relacionados con los efectos reforzantes de la MDMA en ratones adolescentes. Hemos observado que la MDMA produce efectos reforzantes a largo plazo en el paradigma del CPL así como la reinstauración de la preferencia después de su extinción, lo que sugiere la susceptibilidad de esta droga para inducir adicción (Daza-Losada y cols., 2007, 2009a; 2011; Ribeiro Do Couto y cols., 2011). Así, tras extinguir la preferencia condicionada, la reinstauración del CPL inducido por MDMA se puede conseguir con dosis de MDMA cuatro veces menores a la utilizada en el condicionamiento (Daza-Losada y cols., 2007). Además, hemos comprobado que el consumo de MDMA puede incrementar la vulnerabilidad al abuso de otras sustancias, ya que ratones expuestos a repetidas administraciones de MDMA durante la adolescencia, presentan un incremento de los efectos reforzantes de la morfina cuando son adultos, de forma que reinstauran la preferencia con dosis mucho más bajas que aquellos no tratados (Daza-Losada y col., 2008a). Además estos ratones muestran en el periodo adulto alteraciones en la ansiedad y en sus conductas sociales, un descenso en los niveles estriatales de DA y una mayor sensibilidad a los efectos reforzantes de la MDMA, resultando reforzantes dosis inefectivas en animales control

Justificación.

(Daza-Losada y col., 2008b, 2009a; Ribeiro Do Couto y cols., 2011b; Rodríguez-Arias y cols., 2011). Los efectos reforzantes de la MDMA se prolongan mucho más en el tiempo en ratones expuestos a la MDMA durante la adolescencia. Estos animales requieren mucho más tiempo que los no expuestos a la MDMA para extinguir la preferencia de lugar inducida por MDMA. Igualmente el tiempo que requieren para extinguir la reinstauración de la preferencia es mucho más prolongado (Daza-Losada y cols., 2009a; Ribeiro Do Couto y cols., 2011). De forma similar, la duración de la preferencia condicionada por la MDMA se prolonga en ratones expuestos al alcohol durante la adolescencia (Ribeiro Do Couto y cols., 2011).

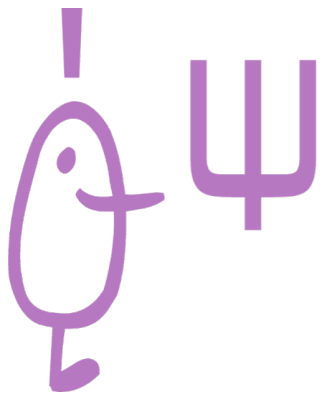
En diversos trabajos hemos estudiado la implicación del sistema endocannabinoide en los efectos reforzantes de la MDMA. La preexposición a cannabinoides durante la adolescencia incrementa los efectos reforzantes de la MDMA y favorece la reinstauración de la preferencia (Rodríguez-Arias y cols., 2010). Además, una dosis baja del agonista cannabinoide WIN 55212-2 incrementa el CPL inducido por una dosis baja de MDMA; sin embargo, una dosis más alta disminuye el efecto reforzante de dosis mayores de MDMA. El antagonista cannabinoide SR 141716A también incrementa los efectos reforzantes de una dosis baja de MDMA (Manzanedo y cols., 2010). Además, este agonista cannabinoide potencia los efectos reinstauradores de una dosis subumbral de MDMA, y el antagonista cannabinoide SR 141716A sólo o en combinación con una dosis “*priming*” de MDMA reinstaura la preferencia condicionada por la MDMA (Daza-Losada y cols., 2011).

En este contexto y como continuación de estos trabajos, en la presente tesis nuestro interés se ha centrado en estudiar la implicación del sistema dopaminérgico y serotoninérgico en las diferentes conductas implicadas en el CPL inducido por MDMA, incluidas la adquisición, expresión, extinción y la reinstauración (modelo animal de recaída), observando los cambios producidos por los tratamientos empleados en los niveles de estos neurotransmisores y de sus metabolitos, así como en los transportadores de DA y 5-HT.

Comprender la contribución de los diferentes sistemas de neurotransmisión en la mediación de los efectos de la MDMA, y en concreto sobre sus efectos reforzantes y reinstauradores es importante, ya que estos contribuyen en gran medida al desarrollo

del abuso y la dependencia. Entendiendo las bases neurobiológicas de estos efectos se pueden diseñar racionalmente estrategias farmacológicas que pueden servir de ayuda en el tratamiento de los pacientes que tienen dificultad para controlar su consumo, ya que actualmente no existen opciones farmacológicas eficaces para el tratamiento de la dependencia al éxtasis.

Hipótesis y objetivos



7.1. Hipótesis.

Dado el complejo perfil neuroquímico de la MDMA, nuestra hipótesis es que múltiples sistemas de neurotransmisión pueden estar implicados en sus efectos reforzantes, así como en la vulnerabilidad a la recaída. En concreto, hipotetizamos que la inhibición de la liberación de DA y los antagonistas dopaminérgicos y serotoninérgicos bloquearán el efecto reforzante de la MDMA en el CPL, pudiendo depender este efecto de los receptores implicados en las acciones de los fármacos empleados D₁, D₂ o ambos en el caso de los antagonistas dopaminérgicos, y 5-HT_{1/2}, 5-HT₃, 5-HT₂/D₂ en el caso de los antagonistas serotoninérgicos.

Igualmente, pensamos que el inhibidor de la liberación de DA así como los antagonistas dopaminérgicos y serotoninérgicos pueden bloquear la expresión del CPL.

Por el contrario, pensamos que la fluoxetina y la cocaína, como estimulantes del sistema serotoninérgico y dopaminérgico, respectivamente, pueden incrementar los efectos reforzantes de la MDMA e incluso inducir reinstauración cruzada.

Aunque es más difícil hipotetizar sobre el efecto de estos fármacos sobre la reinstauración del CPL inducido por MDMA, pensamos que alguno de ellos, especialmente los antagonistas serotoninérgicos, pueden ser capaces de inhibir esta reinstauración.

Por lo que respecta al efecto neurotóxico que induce nuestro programa de tratamiento, sabemos que el condicionamiento alterno no afecta a la concentración de DA y 5-HT, pero pensamos que puede alterarse la concentración de sus transportadores. Igualmente hipotetizamos que la recaída en la búsqueda de la MDMA se puede asociar a disminuciones en el DAT y el SERT, pudiendo incluso verse afectada la concentración de DA, basándonos en lo observado en estudios previos de sensibilización.

7.2. Objetivo general.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el papel de los sistemas dopaminérgico y serotoninérgico en las propiedades reforzantes de la MDMA y en la vulnerabilidad a la recaída tras el consumo de MDMA. En concreto, hemos estudiado la implicación de estos sistemas de neurotransmisión en la adquisición, expresión y reinstauración del CPL inducido por MDMA en ratones adolescentes. Para ello utilizamos diferentes agonistas y antagonistas de estos sistemas de neurotransmisión en las fases anteriormente mencionadas del CPL. Además, estudiamos la posible neurotoxicidad provocada por la MDMA, medida por las concentraciones de DA y 5-HT en tejido cerebral así como los cambios en los transportadores de DA (DAT) y serotonina (SERT) en las diferentes fases del CPL. Así, pretendemos confirmar la capacidad adictiva de la MDMA, y estudiar si los fármacos que afectan a estos sistemas facilitan o perjudican este proceso y su relación con la reinstauración. Así, pretendemos contribuir al conocimiento sobre los efectos comportamentales y neuroquímicos de esta droga para facilitar el diseño de estrategias de intervención a medio y largo plazo, que puedan ser útiles en el tratamiento de la adicción a esta sustancia y contribuir al avance en el conocimiento de la neurobiología de la adicción.

7.3. Objetivos específicos.

1. Estudiar la implicación del sistema serotoninérgico en los efectos reforzantes de la MDMA, valorando los efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.
2. Estudiar la implicación del sistema serotoninérgico en los efectos reforzantes de la MDMA, valorando los efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la expresión del CPL inducido por MDMA.
3. Estudiar la implicación del sistema serotoninérgico en la vulnerabilidad a la recaída tras el consumo de MDMA, valorando tras la extinción del CPL los

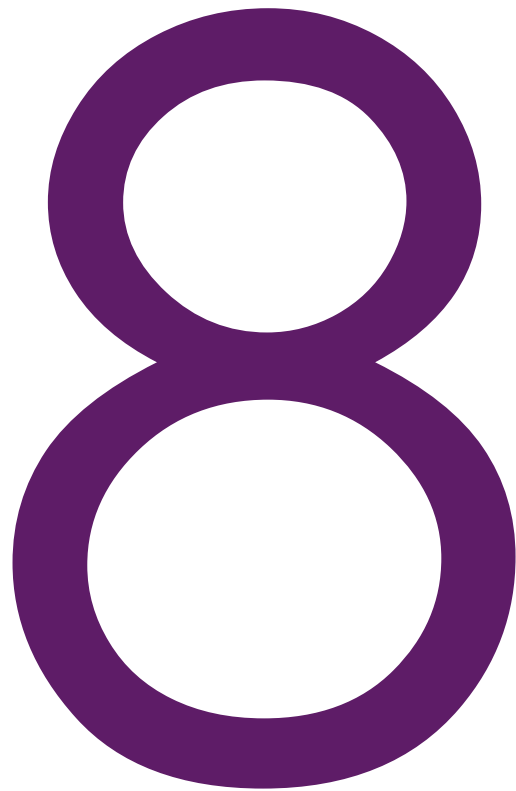
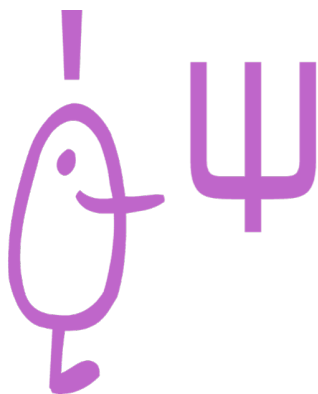
- efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico en la reinstauración inducida por MDMA.
4. Estudiar la implicación del sistema serotoninérgico en los efectos reforzantes de la MDMA, valorando los efectos de la estimulación del sistema serotoninérgico sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.
 5. Estudiar la implicación del sistema serotoninérgico en la vulnerabilidad a la recaída tras el consumo de MDMA, valorando tras la extinción del CPL los efectos de la estimulación del sistema serotoninérgico en la reinstauración inducida por MDMA.
 6. Estudiar la implicación del sistema dopaminérgico en los efectos reforzantes del MDMA, valorando los efectos del bloqueo del sistema dopaminérgico sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.
 7. Estudiar la implicación del sistema dopaminérgico en los efectos reforzantes del MDMA, valorando los efectos del bloqueo del sistema dopaminérgico sobre la expresión del CPL inducido por MDMA.
 8. Estudiar la implicación del sistema dopaminérgico en la vulnerabilidad a la recaída tras el consumo de MDMA, valorando tras la extinción del CPL los efectos de diferentes antagonistas del sistema dopaminérgico en la reinstauración inducida por MDMA.
 9. Estudiar la implicación del sistema dopaminérgico en los efectos reforzantes del MDMA, valorando los efectos de la estimulación del sistema dopaminérgico sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.
 10. Estudiar los cambios que nuestro programa de condicionamiento junto con el bloqueo o la estimulación del sistema serotoninérgico induce sobre las concentraciones de DA, 5-HT y sus metabolitos en el estriado, córtex e hipocampo, así como sobre el DAT y el SERT en el estriado, en el momento del test o cuando los animales reinstauran la preferencia por el compartimento asociado a la MDMA (recaída).

Hipótesis y objetivos.

11. Estudiar los cambios que nuestro programa de condicionamiento junto con el bloqueo o la estimulación del sistema dopaminérgico induce sobre las concentraciones de DA, 5-HT y sus metabolitos en el estriado, córtex e hipocampo, así como sobre el DAT y el SERT en el estriado, en el momento del test o cuando los animales reinstauran la preferencia por el compartimento asociado a la MDMA (recaída).

Estudio 1:

Efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la adquisición, la expresión y la reinstauración del CPL inducido por MDMA



8.1. Introducción.

Diferentes datos de estudios en animales y humanos indican que el éxtasis o MDMA puede actuar como una droga con potencial de abuso. Se ha documentado dependencia a la MDMA tras un consumo crónico (Cottler y cols., 2001; Leung y cols., 2010) y algunos usuarios de éxtasis muestran una clara preocupación acerca de su consumo (Degenhardt y cols., 2010). Diferentes especies como babuinos, macacos Rhesus, ratas y ratones se autoadministran MDMA (Beardsley y cols., 1986; Lamb y Griffiths, 1987; Ratzenboeck y cols., 2001; Braidá y Sala, 2002; Cornish y cols., 2003; Schenk y cols., 2003; Orejarena y cols., 2009; Schenk, 2009). Además, su administración disminuye el umbral para la AEIC del haz prosencefálico medial (Hubner y cols., 1988), e induce CPL en ratas y ratones (Bilsky y cols., 1990, 1991, 1998; Bilsky y Reid, 1991; Schechter, 1991; Marona-Lewicka y cols., 1996; Meyer y cols., 2002; Cole y cols., 2003; Braidá y cols., 2005; Daza-Losada y cols., 2007, 2009, 2011; Chen y cols., 2008; Marie-Claire y cols., 2008; Manzanedo y cols., 2010; Rodríguez-Arias y cols., 2010) siendo capaz de reinstaurar una preferencia condicionada previamente extinguida (Daza-Losada y cols., 2007, 2009, 2011; Manzanedo y cols., 2010; Rodríguez-Arias y cols., 2010).

Diferentes sistemas de neurotransmisión están implicados en los efectos reforzantes de la MDMA. La DA juega un papel importante en la recompensa producida por los reforzadores naturales y por las drogas. El sistema dopaminérgico mesolímbico, con sus aferencias glutamatérgicas y sus eferencias GABAérgicas desde el N. Acc, constituyen los componentes más importantes del sistema cerebral de recompensa (Wise, 2005). Una característica central de las drogas es su habilidad para inducir un incremento en la DA extracelular en el N. Acc. (Willuhn y cols., 2010) como lo hace la MDMA (Koch y Galloway, 1997; Colado y cols., 2004; Bankson y Yamamoto, 2004; O'Shea y cols., 2005). Se ha determinado que los receptores D₁ y D₂ están implicados en el mantenimiento de la AA de MDMA (Brennan y cols., 2009). Así, el SCH 23390 produce un desplazamiento a la derecha en la curva dosis respuesta de la MDMA (Daniela y cols., 2004), mientras que el eticlopride incrementa la tasa de respuesta mantenida por la mayoría de dosis de MDMA (Brennan y cols., 2009). El

inhibidor de la liberación de DA, CGS 10746B, bloquea el establecimiento del CPL inducido por MDMA (Blisky y cols., 1998).

La MDMA actúa principalmente liberando 5-HT presináptica y, en menor medida NA y DA (Schmidt y cols., 1987). Se piensa que este efecto se debe a una inversión en el funcionamiento normal del SERT (Rudnick y Wall, 1992), y la liberación de DA inducida por MDMA parece depender de esta interacción entre la MDMA y el SERT (Gudelsky y Nash, 1996; Koch y Galloway, 1997). Por otra parte, los receptores 5-HT₂ están implicados en la modulación de la liberación de la 5-HT mesolímbica (Gudelsky y cols., 1994). La MDMA ha mostrado tener una elevada afinidad por el SERT y una afinidad moderada por los receptores postsinápticos 5-HT₂ (Battaglia y cols., 1988) y parece actuar como agonista 5-HT₂ a dosis elevadas (Teitler y cols., 1990). En humanos, la MDMA produce un estado emocional positivo, incremento en la autoestima, extroversión, moderada desrealización e intensificación de la percepción sensorial. La mayoría de estos efectos se reducen marcadamente con la administración de citalopram, sugiriendo que los efectos psicológicos de la MDMA están mediados por la acción de la MDMA en el SERT, incrementando la liberación de 5-HT (Liechti y cols., 2000; Liechti y Vollenweider, 2001). Los leves efectos perceptuales de tipo alucinógeno de la MDMA también parecen deberse a la estimulación del receptor 5-HT₂ (Liechti y Vollenweider, 2001). Sin embargo, un pretratamiento con el beta bloqueante y antagonista 5-HT_{1A}, pindolol, sólo ejerce un efecto menor en dos subescalas afectadas por la MDMA (“desrealización positiva” y “ensoñación”), indicando que la estimulación de los receptores 5-HT_{1A} no está estrechamente relacionada con los efectos psicológicos y cognitivos de la MDMA (Hasler y cols., 2009).

En animales experimentales también se ha demostrado la implicación del sistema serotoninérgico en los efectos de la MDMA. Pretratamientos con 0.1 o 0.3 mg/kg de ketanserina o MDL100907 atenuaron la tasa de respuesta para obtener S(+)-MDMA, y abolieron completamente las respuestas para obtener R(-)-MDMA en macacos Rhesus, lo que sugiere que la estimulación de los receptores 5-HT_{2A} es crítica para los efectos reforzantes de la MDMA (Fantegrossi y cols., 2002). La MDMA no mantiene la AA intravenosa en ratones KO para el SERT a dosis que resultan

efectivas para adquirir la AA en animales WT (Trigo y cols., 2007). La AA de MDMA también se ve mitigada en ratones KO para los receptores 5-HT_{2A} en comparación con los WT (Orejarena y cols., 2011). El CPL inducido por MDMA observado en animales WT no se observa en ratones KO para el receptor 5-HT_{2B}, aunque éste se llega a observar cuando se emplea una dosis elevada (30 mg/kg) (Doly y cols., 2009). En el paradigma de CPL se ha demostrado que los receptores 5-HT₃ contribuyen a los efectos recompensantes de la MDMA (Bilsky y Reid, 1991; Braida y cols., 2005).

Otros neurotransmisores contribuyen a modular los efectos recompensantes de la MDMA, como los opioides endógenos (Bilsky y cols., 1991; Braida y cols., 2005; Belkai y cols., 2009), endocannabinoides (Braida y Sala, 2002; Braida y cols., 2005; Touriño y cols., 2008; Manzanedo y cols., 2010; Rodríguez-Arias y cols., 2010), neurotensina (Marie-Claire y cols., 2008) y adenosina (Ruiz-Medina y cols., 2011).

El papel de los sistemas de neurotransmisión implicados en la reinstauración de los efectos reforzantes de la MDMA tras su extinción ha sido menos estudiado. Un estudio reciente mostró que la reinstauración del CPL inducido por MDMA se bloqueó completamente en animales tratados con un antagonista de los receptores 5-HT_{2B}, el RS127445, indicando que la estimulación de estos receptores se requiere para la inducción de la reinstauración del CPL (Doly y cols., 2009). La reinstauración de la AA de MDMA inducida por claves fue bloqueada por el antagonista de los receptores 5-HT_{2A}, SR46349B (eplivanserina) (Orejarena y cols., 2011) el ISRS, clomipramina, el antagonista D₁, SCH23390 y el antagonista D₂, eticlopride (Schenk y cols., 2011). La reinstauración de la búsqueda de la droga tras la extinción de la AA, inducida por un priming de MDMA tuvo una correlación positiva con la liberación de DA en el estriado dorsal (Colussi-Mas y cols., 2010).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la implicación de diversos receptores serotoninérgicos en los efectos recompensantes y reinstauradores de la MDMA en ratones adolescentes empleando el paradigma del CPL. Con este propósito hemos estudiado el efecto de varios antagonistas serotoninérgicos con diferente perfil de bloqueo (5-HT₁/5-HT₂, la metergolina; 5-HT₃, el MDL 72222; y 5-HT₂/DA₂ la risperidona) en la adquisición, expresión y reinstauración del CPL inducido por MDMA.

Estudio 1.

8.2. Efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.

8.2.1. Materiales y métodos.

8.2.1.1. Sujetos.

En la realización de este estudio se emplearon 285 ratones albinos machos de la cepa OF1, adquiridos comercialmente en los laboratorios Charles River (Barcelona, España). Los animales tenían 21 días de edad a su llegada a nuestro laboratorio y fueron alojados en grupos de 4 en cajas de plástico opacas (25 x 25 x 14,5 cm) 8 días antes del comienzo de los experimentos. Las condiciones ambientales del laboratorio consisten en temperatura constante ($21 \pm 2^\circ\text{C}$), ciclo de luz (de 19:30 a 7:30) / oscuridad (de 7:30 a 19:30), acceso al agua y comida ad libitum exceptuando los momentos de las pruebas conductuales y limpieza semanal de las jaulas.

Los animales fueron manipulados (acariciados durante un minuto y colocados en una jaula diferente durante 15 minutos) durante tres días antes del comienzo de los experimentos para reducir el estrés producido por las manipulaciones experimentales. Los procedimientos de tratamiento y cuidado de los animales se realizaron de acuerdo con las leyes y regulaciones nacionales, regionales y locales, las cuales coinciden con las regulaciones marcadas por la directiva europea European Communities Council Directives (86/609/EEC, 24 de noviembre de 1986).

8.2.1.2. Aparatos.

Para la realización del CPL se emplearon 12 cajas de plexiglás idénticas, con dos compartimentos de igual tamaño (30.7 cm de largo x 31.5 cm de ancho x 34.5 cm de alto), separadas por un área central que comunica ambos compartimentos de color gris (13.8 cm de largo x 31.5 cm de ancho x 34.5 cm de alto). Los compartimentos tienen paredes de diferente color (blancas vs negras) y distinta textura del suelo (liso en el compartimento negro y rugoso para el blanco). Ambos compartimentos pueden ser separados del pasillo central mediante la colocación de unos separadores tipo guillotina. Cada compartimento lateral dispone de 4 células

fotoeléctricas, que junto con las 6 ubicadas en el área central registran en cada momento la posición del animal y los cruces entre compartimentos. Las cajas de condicionamiento se controlan mediante 3 ordenadores IBM PC mediante el software MONPRE 2z (CIBERTEC, S.A., Madrid, España).

8.2.1.3. Tratamiento farmacológico.

Los animales fueron inyectados con 10 mg/kg de MDMA (hidrocloruro de \pm 3,4-metilendioximetanfetamina, Laboratorios Lipomed AG, Suiza), 1 o 2 mg/kg de metergolina (Laboratorios Tocris bioscience), 1 o 3 mg/kg de MDL 72222 (Laboratorios Tocris bioscience) o 0.1 o 0.3 mg/kg de risperidona (Janssen Farmaceutica), en un volumen de 0.01 ml/g. Los grupos control recibieron solución salina fisiológica (NaCl 0.9%), la cual fue empleada igualmente para disolver los fármacos. La metergolina y el MDL 72222 fueron disueltos en 100 ml de solución salina junto con dos gotas de ácido acético.

8.2.1.4. Procedimiento del Condicionamiento de Preferencia de Lugar.

8.2.1.4.1. Adquisición.

El CPL se realizó, durante la fase oscura del ciclo de luz/oscuridad, siguiendo un procedimiento "no sesgado" en términos de la preferencia inicial espontánea y consistió en tres fases. Durante la primera fase o pre-condicionamiento (Pre-C), los animales tuvieron libre acceso a ambos compartimentos durante 15 minutos (900 s) cada día, durante 3 días. El tercer día los tiempos de permanencia en cada compartimento fueron registrados durante 900 s. Los animales que mostraron una fuerte aversión o preferencia incondicionada (menos del 33% o más del 67% del tiempo total pasado en los compartimentos respectivamente) fueron descartados del procedimiento.

Una vez descartados los animales con una fuerte aversión o preferencia incondicionada, se eligió un compartimento para ser asociado con el fármaco, de tal

Estudio 1.

forma que para cada grupo, la mitad de los animales recibieron el fármaco en el compartimento preferido y la otra mitad en el no preferido, balanceándose igualmente el color del compartimento. Después de realizar la asignación de los compartimentos, un ANOVA reveló la ausencia de diferencias entre el tiempo pasado en el compartimento asociado al fármaco y el tiempo pasado en el compartimento asociado al vehículo durante la fase de Pre-C. Esta medida es importante, ya que evita la existencia de sesgos iniciales en la preferencia incondicionada, antes de la fase de condicionamiento.

En la segunda fase o Condicionamiento, los animales fueron condicionados con el/los fármacos correspondientes a cada grupo experimental, mediante 4 asociaciones del fármaco con el compartimento respectivo, así como 4 asociaciones de salino con el compartimento no asociado, realizando una asociación cada día durante 8 días consecutivos. Durante esta fase, el área central no fue empleada y su acceso fue bloqueado mediante unos separadores. Los animales recibieron una administración del fármaco correspondiente 30 minutos antes de ser confinados en el compartimento asociado en el caso de los antagonistas o inmediatamente antes de ser confinados en el caso de la MDMA. Las sesiones de condicionamiento tuvieron una duración de 30 minutos, realizándose las asociaciones con el fármaco en los días 4, 6, 8 y 10 y las asociaciones con suero fisiológico en los días 5, 7, 9, y 11.

En la tercera fase o Post-Condicionamiento (Post-C), el día 12º se retiraron los separadores, permitiendo el acceso a todo el aparato y se registró el tiempo que permanecieron los animales en ambos compartimentos durante un periodo de 900 s. En esta fase los animales no recibieron ningún tipo de tratamiento. La diferencia entre el tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco entre el Pre-C y el Post-C es un índice del grado de condicionamiento inducido por el fármaco. Si esta diferencia es positiva, el fármaco habría inducido una preferencia de lugar condicionada, mientras que lo contrario sería indicativo de una aversión condicionada.

8.2.1.4.2. Extinción.

Los grupos que desarrollaron una preferencia condicionada fueron sometidos a extinciones diarias, consistentes en colocar a los animales en el aparato con libre acceso a todos los compartimentos durante 15 minutos, en los que se registraron los tiempos de permanencia en los compartimentos. Este procedimiento se repitió diariamente hasta que el tiempo de permanencia en el compartimento asociado con el fármaco para cada grupo condicionado, fue similar al observado durante el Pre-C y diferente del registrado en el Post-C (diferencias comprobadas mediante prueba t de Student). Así, en cada grupo, los animales recibieron el mismo número de sesiones de extinción, independientemente de sus valores individuales, puesto que el criterio de extinción hace referencia a las medias grupales. Los grupos que no desarrollaron una preferencia condicionada sólo realizaron una sesión de extinción para confirmar la ausencia de condicionamiento. La extinción del condicionamiento siempre se confirmó en una nueva sesión de extinción 24 horas después de la última sesión de extinción.

8.2.1.4.3. Reinstauración.

Una vez confirmada la extinción, 24 horas después se evaluó el efecto de una dosis priming de MDMA. La sesión de reinstauración se realizó de forma similar a la sesión de Post-C, con la diferencia de que en este caso los animales fueron colocados en el aparato 15 minutos después de haber recibido una administración no contingente de 5 mg/kg de MDMA.

8.2.1.5. Diseño experimental.

Los animales recibieron los fármacos durante la fase de condicionamiento, 30 minutos antes en el caso de los antagonistas e inmediatamente antes de cada sesión de condicionamiento en el caso de la MDMA. Los grupos experimentales (n=15) fueron los siguientes:

Estudio 1.

1. Salino + Salino (Sal+Sal).
2. Salino + MDMA 10 (Sal+M10).
3. Metergolina 1 mg/kg + Salino (Met 1+Sal).
4. Metergolina 2 mg/kg + Salino (Met 2+Sal).
5. Metergolina 1 mg/kg + MDMA 10 (Met 1+M10).
6. Metergolina 2 mg/kg + MDMA 10 (Met 2+M10).
7. MDL 72222 1 mg/kg + Salino (MDL 1+Sal).
8. MDL 72222 3 mg/kg + Salino (MDL 3+Sal).
9. MDL 72222 1 mg/kg + MDMA 10 (MDL 1+M10).
10. MDL 72222 3 mg/kg + MDMA 10 (MDL 3+M10).
11. Risperidona 0.1 mg/kg + Salino (Risp 0.1+Sal).
12. Risperidona 0.3 mg/kg + Salino (Risp 0.3+Sal).
13. Risperidona 0.1 mg/kg + MDMA 10 (Risp 0.1+M10).
14. Risperidona 0.3 mg/kg + MDMA 10 (Risp 0.3+M10).

En los grupos que mostraron un efecto en los experimentos conductuales, se llevaron a cabo determinaciones neuroquímicas, para lo cual posteriormente 5 grupos adicionales recibieron un tratamiento farmacológico equivalente al que recibieron los grupos con los que se realizó el CPL, para realizar el análisis de las monoaminas cerebrales (n=7) y la determinación de las concentraciones de DAT y SERT (n=8). Los grupos que se realizaron para estos análisis fueron:

1. Salino – Salino (Sal-Sal).
2. Salino – MDMA 10 (Sal-M10).
3. MDL 72222 1 mg/kg – MDMA 10 (MDL 1-M10).
4. MDL 72222 3 mg/kg – MDMA 10 (MDL 3-M10).
5. Risperidona 0.3 mg/kg – MDMA 10 (Risp 0.3- M10).

8.2.1.6. Determinaciones neuroquímicas.

8.2.1.6.1. Análisis de monoaminas cerebrales.

En los 5 grupos destinados al análisis de las monoaminas cerebrales, 24 horas después de finalizar el tratamiento (en el momento correspondiente al Post-C), los

animales fueron sacrificados mediante fractura cervical, se extrajo rápidamente el cerebro y se diseccionó el tejido de interés según el método descrito en Heffner y cols. (1980), se pesaron las muestras y se congelaron a -80°C hasta su uso. Las estructuras analizadas fueron: corteza frontal, estriado e hipocampo.

El día del análisis, las muestras se descongelaron, se homogenizaron en 200 μl de ácido perclórico (0.1 N) mediante ultrasonidos, se centrifugaron a 11000 r.p.m. durante 30 minutos y los sobrenadantes se dividieron en alícuotas para realizar el análisis de monoaminas. La determinación de DA, DOPAC, ácido homovanílico (HVA), 5-HT, y ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta precisión (HPLC, Agilent series 1100 HPLC). Las muestras se pasaron a través de una columna (ZORBAX Eclipse XDB-C8 4.6 X 150 mm, 5 μm) con ayuda de una fase móvil constituida por acetato de sodio (0.01M), ácido cítrico (0.01M), EDTA 0.70 mM y metanol al 14%, a un flujo constante de 1 ml/min. El HPLC se mantuvo a una temperatura ambiente constante ($21\pm 1^{\circ}\text{C}$). Los analitos se oxidan mediante un electrodo de carbón cristalizado mantenido a 300 mV (450mV para la detección de HVA) y contrastados con un electrodo de referencia de Ag/AgCl (plata/cloruro de plata). La separación completa de las monoaminas se alcanza en 25 min. Los datos se registraron y se analizaron mediante el software Merk-Hitachi (modelo D-7000). Los niveles de 5-HT, y 5-HIAA fueron analizados en corteza frontal, estriado e hipocampo. Por otra parte, los niveles de DA, DOPAC, y HVA fueron analizados en el estriado.

8.2.1.6.2. Determinación de los transportadores de dopamina y serotonina.

La determinación de los transportadores de DA y 5-HT se realizó en el estriado. Para el lisado del tejido cerebral las muestras se homogeneizaron en 10 volúmenes de RIPA buffer (150 mM NaCl, 1.0% IGEPAL® CA-630, 0.5% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 50 mM Tris, pH 8.0.) con 10 μl de Dithiothreitol (DTT 1M), un comprimido de inhibidor de proteasas (Complete, Mini, EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail Tablet, Roche) y un comprimido de inhibidor de fosfatasas (PhosStop Phosphatase Inhibitor Cocktail Tablet, Roche) en 10 ml de buffer, y fueron incubadas en agitación

Estudio 1.

durante 30 min. El homogeneizado se centrifugó a 13.000 rpm durante 20 minutos a 4°C y se recogió el sobrenadante. Para la determinación de la concentración de proteínas se empleó el ensayo de Bio-Rad basado en el método de Bradford, según las instrucciones del fabricante, empleando albúmina de suero bovino (BSA) como proteína estándar. 10 µg de proteínas se separaron empleando un gel de poliacrilamida (Criterion Tris-HCl Glycine 10 %) y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa (Bio-Rad). Las membranas se incubaron en buffer de bloqueo [5% leche desnatada en polvo en Tris buffer salino (TBS) [20mM Tris-HCl (pH 7.4) y 150mM NaCl] con 0.05 % de Tween-20 (TBS-T)] durante 2 horas a temperatura ambiente. Las membranas se incubaron durante 16 horas con un anticuerpo policlonal para DAT (1:6.000) o SERT (1:1.500) desarrollados en cabra (Santa Cruz Biotechnology, Inc). Posteriormente realizaron lavados en TBS-T 5 x 5 minutos y se realizó una incubación de 2 horas con el anticuerpo secundario anti-cabra (Santa Cruz Biotechnology, Inc) en TBS-T con leche desnatada en polvo al 5% [DAT (1:40.000), SERT (1:20.000)]. Las membranas se volvieron a lavar 5 x 5 minutos en TBS-T y posteriormente se procedió al revelado (SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrate). Para controlar la carga de proteínas se incubaron las membranas con un anticuerpo para actina (1:4.000) (Santa Cruz Biotechnology, Inc) durante 2 horas, después de los lavados en TBS-T se añadió el mismo anticuerpo secundario anti-cabra (1:8.000). El análisis y cuantificación de las bandas se realizó con el software Quantity One. Los datos fueron normalizados con respecto al grupo control.

8.2.1.7. Análisis estadístico.

Para evaluar los efectos de los antagonistas serotoninérgicos sobre la adquisición del CPL, los datos del tiempo pasado por los animales en el compartimento asociado al fármaco fueron analizados con un ANOVA para cada uno de los antagonistas serotoninérgicos empleados, con dos variables entre: "Dosis de MDMA" con dos niveles (0 y 10 mg/kg), una segunda variable entre "Dosis de antagonista" con tres niveles en cada caso (Metergolina, 0, 1 y 2 mg/kg; MDL 72222, 0, 1 y 3 mg/kg;

Risperidona, 0, 0.1 y 0.3 mg/kg) y una variable intra "Días", con dos niveles (Pre-C y Post-C).

En el caso de los grupos que desarrollaron preferencia se realizó un nuevo ANOVA con una variable entre "Tratamiento" con 4 niveles (M10, Met1-M10, Met2-M10 y Risp 0.1-M10) y una variable intra "Días" con 4 niveles (Pre-C, Post-C, Extinción y Reinstauración). En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

Se consideró extinguida la preferencia cuando el tiempo pasado por un grupo en el compartimento asociado al fármaco fue significativamente menor al mostrado en el Post-C e igual al mostrado en el Pre-C (analizado mediante la prueba t de Student). El tiempo necesario para extinguir la preferencia en cada animal se analizó mediante la prueba de Kaplan-Meier junto con la comparación de Breslow (Generalized Wilcoxon). Aunque la media del grupo determinó el día en el que se consideró extinguida la preferencia, se consideró que la preferencia había sido extinguida para cada animal cuando pasó 357 segundos o menos en el compartimento asociado a la droga durante dos días consecutivos. Escogimos este punto de corte cogiendo como referencia el tiempo medio del Pre-C + 10 s (Pre-C: 347 s). Cuando la preferencia no fue extinguida en un animal, se le asignó el número de días requerido para la extinción del grupo.

Para analizar las concentraciones de monoaminas cerebrales se empleó un ANOVA con una variable Entre "Tratamiento" con 5 niveles (Sal+Sal, Sal+M10, MDL1+M10, MDL3+M10, Risp0.3+M10). En los análisis post-hoc se empleó el ajuste de Bonferroni. Las diferencias en los niveles de expresión de DAT y SERT en el estriado se analizaron con ANOVAs similares a los empleados para analizar las concentraciones de monoaminas.

Estudio 1.

8.2.2. Resultados.

8.2.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.

8.2.2.1.1. Adquisición.

Los resultados obtenidos pueden observarse en las figuras 1 (adquisición del CPL con antagonistas serotoninérgicos sólo) y 2 (adquisición del CPL con antagonistas serotoninérgicos junto con MDMA).

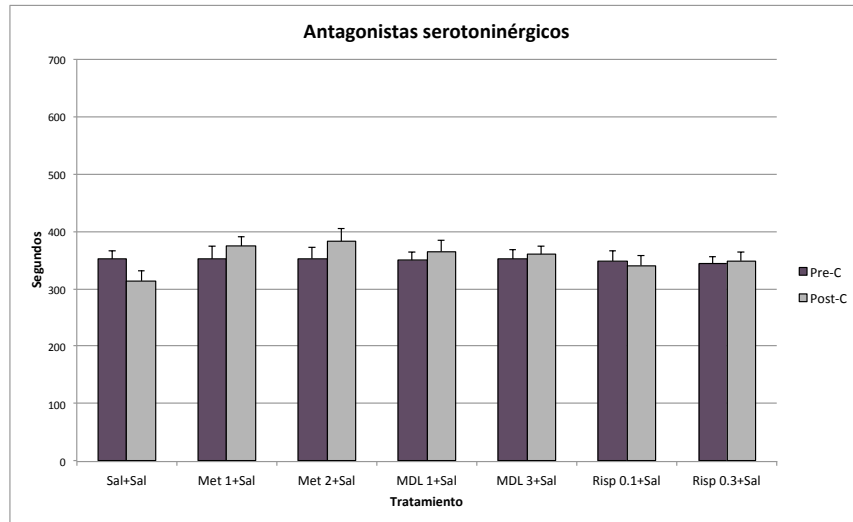


Figura 1: Adquisición del CPL con antagonistas serotoninérgicos (Metergolina, MDL 72222 y Risperidona). El fármaco se administró 30 minutos antes del condicionamiento y el suero fisiológico inmediatamente antes. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris). Los grupos son: Salino + Salino (Sal-Sal, n=12), Metergolina 1 mg/kg + Salino (Met 1+Sal, n=12), Metergolina 2 mg/kg + Salino (Met 2+Sal, n=11), MDL 72222 1 mg/kg + Salino (MDL 1+Sal, n=12), MDL 72222 3 mg/kg + Salino (MDL 3+Sal, n=13), Risperidona 0.1 mg/kg + Salino (Risp 0.1+Sal, n=10) y Risperidona 0.3 mg/kg + Salino (Risp 0.3+Sal, n=12).

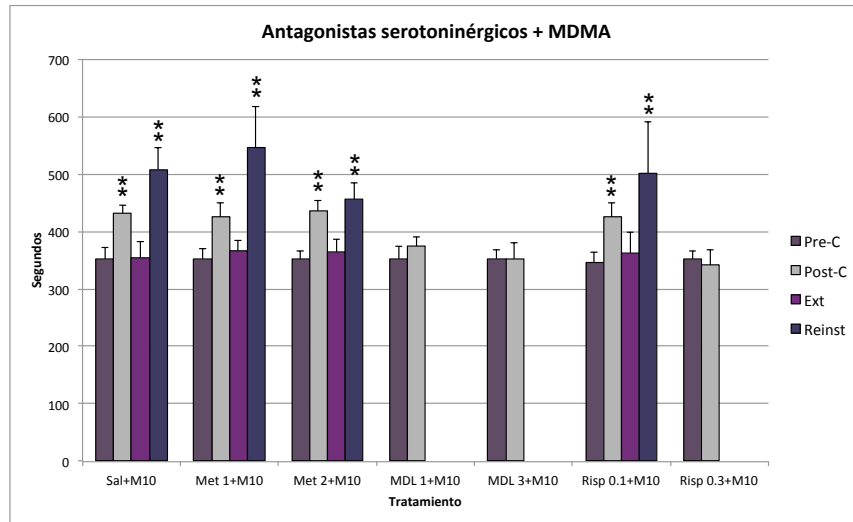


Figura 2: Adquisición del CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA con antagonistas serotoninérgicos (Metergolina, MDL 72222 y Risperidona). Los antagonistas se administraron 30 minutos antes del condicionamiento y la MDMA inmediatamente antes. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris). Los grupos son: Salino + MDMA 10 (Sal-M10, n=12), Metergolina 1 mg/kg + MDMA 10 (Met 1+ M10, n=11), Metergolina 2 mg/kg + MDMA 10 (Met 2+ M10, n=13), MDL 72222 1 mg/kg + MDMA 10 (MDL 1+ M10, n=12), MDL 72222 3 mg/kg + MDMA 10 (MDL 3+ M10, n=13), Risperidona 0.1 mg/kg + MDMA 10 (Risp 0.1+ M10, n=10), Risperidona 0.3 mg/kg + MDMA 10 (Risp 0.3+ M10, n=12). Diferencias significativas respecto al Pre-C ** $p < 0.01$.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron metergolina reveló un efecto significativo de las variables Días [$F(1,65)=23.835$; $p < 0.001$], Dosis de MDMA [$F(1,65)=10.956$; $p < 0.01$] y la interacción “Días x Dosis de MDMA” [$F(1,65)=19.346$; $p < 0.001$]. El tiempo pasado en el compartimento asociado al fármaco fue mayor en el día del Post-C, y los grupos que recibieron 10 mg/kg de MDMA pasaron más tiempo en el compartimento asociado. Se observaron mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado al fármaco el día del Post-C en los grupos que recibieron 10 mg/kg de MDMA en comparación con los que recibieron salino ($p < 0.001$), así como diferencias entre el día del Pre-C y el día del Post-C en los grupos que recibieron 10 mg/kg de MDMA ($p < 0.001$). Por tanto, la metergolina no bloqueó la adquisición del CPL inducido por MDMA (Figs. 1 y 2).

Estudio 1.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron MDL 72222 reveló efectos significativos para las interacciones “Días x Dosis de MDMA” [$F(1,68)=4.743$; $p<0.05$] y “Días x Dosis de MDMA x Dosis de MDL 72222” [$F(2,68)=5.212$; $p<0.01$]. Las comparaciones post-hoc mostraron diferencias en los tiempos de permanencia en el compartimento asociado entre las dosis de MDMA en el día del Post-C ($p<0.05$), así como diferencias entre Pre-C y Post-C en los grupos que recibieron 10 mg/kg de MDMA ($p<0.01$). El grupo que recibió 3 mg/kg de MDL 72222 + 10 mg/kg de MDMA mostró el día del Post-C menores tiempos de permanencia en el compartimento asociado que el grupo que recibió salino + 10 mg/kg de MDMA ($p<0.01$). Sólo el grupo que recibió salino + 10 mg/kg de MDMA mostró mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado en comparación al grupo control (sal+sal) el día del Post-C ($p<0.001$), así como diferencias entre el Pre-C y el Post-C ($p<0.001$). Estos resultados denotan la ausencia de CPL en los grupos que recibieron MDL 72222 sólo o en combinación con MDMA. Por tanto, este fármaco bloqueó la adquisición del CPL inducido por MDMA (Figs. 1 y 2).

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron risperidona reveló un efecto significativo de las variables “Días” [$F(1,62)=5.223$; $p<0.05$] y “Dosis de MDMA” [$F(1,62)=12.257$; $p<0.01$], mostrando mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado al fármaco en el Post-C en comparación al Pre-C, y los animales que recibieron 10 mg/kg de MDMA en comparación a los que recibieron salino. La interacción “Días x Dosis de MDMA” [$F(1,62)=12.886$; $p<0.01$] fue significativa, indicando mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado en el Post-C ($p<0.001$), así como diferencias entre el Pre-C y el Post-C ($p<0.001$) en los grupos que recibieron 10 mg/kg de MDMA. La interacción “Dosis de MDMA x Dosis de Risperidona” también fue significativa [$F(2,62)=3.173$; $p<0.05$], indicando diferencias entre las dosis de MDMA en los grupos que recibieron salino o 0.1 mg/kg de risperidona antes de recibir la correspondiente dosis de MDMA (10 mg/kg o salino) ($p<0.01$), pero no en los grupos que recibieron 0.3 mg/kg de risperidona ($p=0.978$). Además, el grupo que recibió 0.3 mg/kg de risperidona + 10 mg/kg de MDMA mostró menores tiempos de permanencia en el compartimento asociado que los grupos que recibieron salino ($p<0.05$) o 0.1 mg/kg de risperidona + 10 mg/kg de MDMA ($p<0.05$). La interacción de las variables “Días x Dosis de MDMA

x Dosis de Risperidona" [$F(2,62) = 5.044$; $p < 0.01$] también fue significativa y reveló diferencias en los tiempos de permanencia en el compartimento asociado entre los grupos que recibieron salino o 10 mg/kg de MDMA en el día del Post-C cuando recibieron antes salino o 0.1 mg/kg de risperidona ($p < 0.001$), pero no entre los grupos que recibieron 0.3 mg/kg de risperidona ($p = 0.775$). Además, el grupo que recibió 0.3 mg/kg de risperidona antes de 10 mg/kg de MDMA mostró menores tiempos de permanencia en el compartimento asociado en el Post-C en comparación con los grupos que recibieron salino o 0.1 mg/kg de risperidona antes de recibir 10 mg/kg de MDMA ($p < 0.01$). Los grupos que recibieron salino o 0.1 mg/kg de risperidona antes de recibir 10 mg/kg de MDMA mostraron diferencias en los tiempos de permanencia en el compartimento asociado entre Pre-C y Post-C ($p < 0.01$), pero no los que recibieron 0.3 mg/kg de risperidona ($p = 0.654$). Estos resultados indican que únicamente la dosis alta de risperidona bloqueó la adquisición del CPL inducido por MDMA (Figs. 1 y 2).

8.2.2.1.2. Extinción.

En la figura 3 se muestra el resultado del análisis de las sesiones de extinción necesarias para conseguir la extinción del CPL para los 4 grupos que mostraron CPL en el test de Post-C.

A pesar de las diferencias entre los 4 grupos en el número de sesiones necesarias para extinguir la preferencia, el análisis de supervivencia realizado con la prueba de Kaplan-Meier, no reveló diferencias significativas en el número de sesiones de extinción necesarias para que los animales dejaran de mostrar la preferencia condicionada.

Estudio 1.

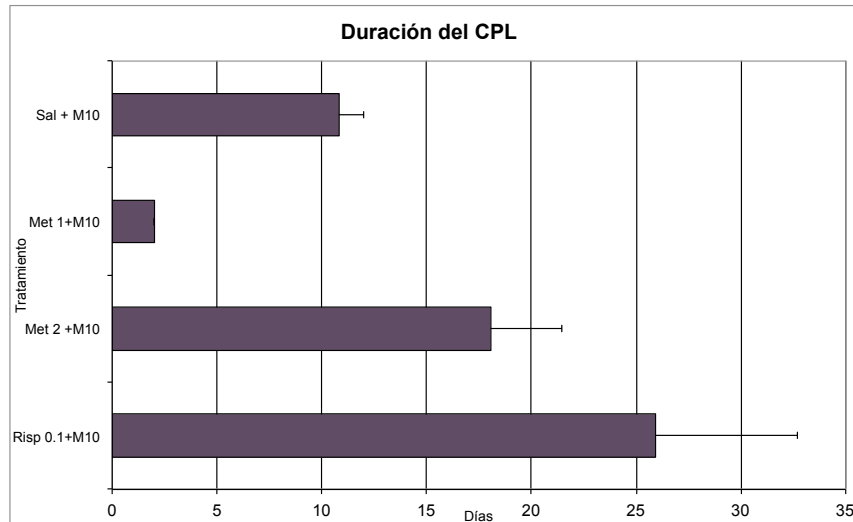


Figura 3: Duración del CPL inducido por MDMA. Los grupos de animales condicionados con Salino + MDMA 10 mg/kg (Sal+M10), Metergolina 1 o 2 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (Met1+M10, Met2+M10) y Risperidona 0.1 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (Risp0.1+M10) que mostraron CPL fueron sometidos a extinciones diarias hasta que se extinguió la preferencia. No se observaron diferencias significativas entre los grupos en la duración del CPL.

8.2.2.1.2. Reinstauración.

El ANOVA realizado con los grupos que desarrollaron preferencia y fueron sometidos posteriormente a sesiones de extinción y reinstauración, reveló un efecto significativo de la variable "Días" [$F(1.680, 67.181)=17.758$; $p<0.001$]. Todos los grupos, independientemente del tratamiento recibido, presentaron mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado los días del Post-C y del test de reinstauración en comparación con el Pre-C y con la extinción, indicando la reinstauración de la preferencia de lugar en los cuatro grupos analizados ($p<0.01$ en todos los casos) (Fig. 2).

8.2.2.2. Determinaciones neuroquímicas.

8.2.2.2.1. Análisis de monoaminas cerebrales.

Los resultados del análisis de las monoaminas cerebrales se muestran en la tabla 1.

		Sal+Sal	Sal+M10	MDL1+M10	MDL3+M10	Risp0.3+M10
Estriado	DA	13602 ± 1029	13309 ± 818	15931 ± 877	18931 ± 1177 **	16288 ± 1056
	DOPAC	2065 ± 173	1777 ± 144	1179 ± 167 *	1239 ± 257 *	1086 ± 194 ***
	HVA	1518 ± 85	927 ± 154	1436 ± 129	1204 ± 72	1247 ± 218
	5-HT	782 ± 42	819 ± 82	1033 ± 79	999 ± 104	1104 ± 131
	5-HIAA	462 ± 33	246 ± 27 ***	225 ± 16 ***	214 ± 13 ***	222 ± 24 ***
C. Frontal	5-HT	737 ± 46	655 ± 63	533 ± 35	893 ± 45	830 ± 44
	5-HIAA	120 ± 19	99 ± 9	101 ± 24	99 ± 8	110 ± 6
Hipocampo	5-HT	408 ± 29	416 ± 22	473 ± 43	524 ± 39	540 ± 24 *
	5-HIAA	353 ± 26	248 ± 24	287 ± 40	210 ± 17 **	243 ± 15

Tabla 1: Concentración de monoaminas en el estriado, córtex frontal e hipocampo de animales tratados durante el condicionamiento con salino (Sal+Sal), Salino + MDMA 10 mg/kg (Sal+M10), MDL 72222 1 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (MDL1+M10), MDL 72222 3 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (MDL3+M10), Risperidona 0.3 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (Risp0.3+M10). Los datos se presentan como media ± S.E.M. * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 diferencias significativas con respecto al grupo control (Sal+Sal).

El ANOVA para los niveles de DA estriatal reveló un efecto de la variable "Tratamiento" [F(4,33)=4.637; p<0.005]. Los animales del grupo MDL3+M10 presentaron mayores niveles de DA que aquellos condicionados con Salino+M10 (p<0.01). Para la concentración estriatal de DOPAC el ANOVA también reveló un efecto de la variable "Tratamiento" [F(4,33)=5.168; p<0.003]. Los grupos condicionados con MDL1+M10 (p<0.05), MDL3+M10 (p<0.05), Risp0.3+M10 (p<0.001) presentaron menores niveles de este metabolito, en comparación con el grupo condicionado con salino. No se observaron diferencias en los niveles de HVA.

La concentración estriatal de 5-HT no mostró diferencias entre grupos. Para la concentración estriatal de 5-HIAA el ANOVA reveló un efecto del Tratamiento [F(4,33)=21.571; p<0.001], con menores concentraciones de este metabolito en todos los grupos en comparación con los ratones tratados con salino (p<0.001).

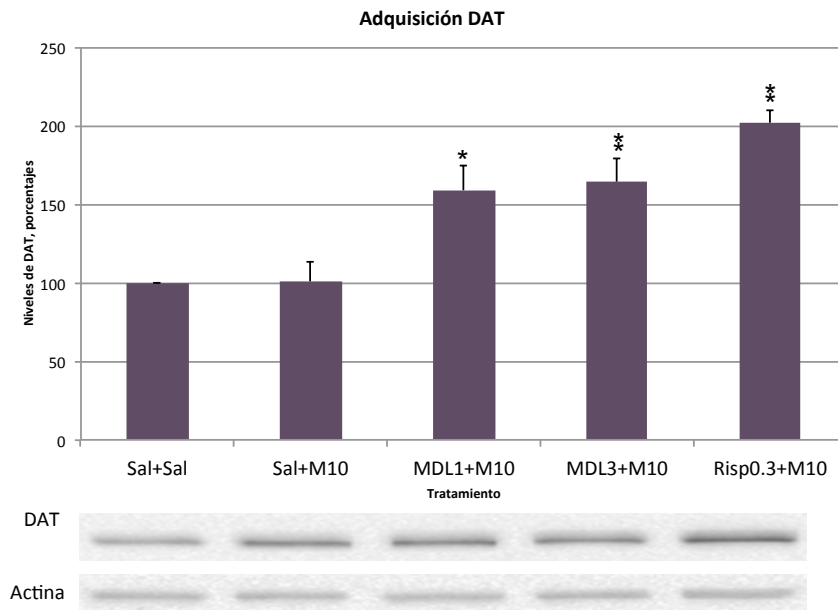
Estudio 1.

El ANOVA para la concentración de 5-HT en el cortex frontal reveló un efecto del Tratamiento [F(4,33)=8.203; p<0.001], con menores niveles en el grupo MDL1+M10 comparado con los grupos MDL3+M10 y Risp0.3+M10 (p<0.01). La concentración de 5-HIAA en el córtex frontal no mostró diferencias entre los grupos de tratamiento.

El ANOVA para las concentraciones hipocampales de 5-HT mostró un efecto de la variable Tratamiento [F(4,33)=3.870; p<0.01], mostrando el grupo tratado con Risp0.3+M10 mayores niveles de 5-HT que el grupo control (p<0.05). El ANOVA de los niveles de 5-HIAA en el hipocampo también reveló un efecto del Tratamiento [F(4,33)=3.921; p<0.01], con una menor concentración en el grupo MDL3+M10 en comparación con el grupo control (p<0.01).

8.2.2.2.2. Determinación de los transportadores de dopamina y serotonina.

Los resultados del análisis de las concentraciones de DAT y SERT se muestran en las figuras 4 y 5.



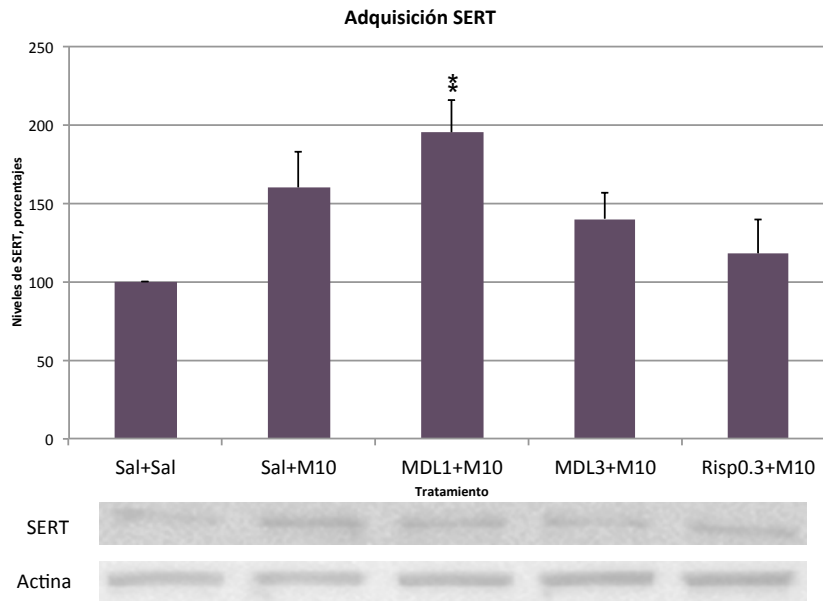


Figura 4 y 5: Concentración del DAT y el SERT en el estriado de ratones tratados durante la fase de adquisición del CPL. Los animales fueron tratados con salino (Sal+Sal), Salino + MDMA 10 mg/kg (Sal+M10), MDL 72222 1 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (MDL1+M10), MDL 72222 3 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (MDL3+M10), Risperidona 0.3 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (Risp0.3+M10). Los datos se presentan como media \pm S.E.M. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ diferencias significativas con respecto al grupo control.

El ANOVA para la concentración del DAT en el estriado reveló un efecto del tratamiento [$F(4,32)=9.654$; $p < 0.001$], mostrando todos los grupos tratados con antagonistas serotoninérgicos incrementos en esta medida con respecto al grupo control y al grupo tratado con M10 ($p < 0.05$ el grupo MDL1+M10 y $p < 0.01$ los grupos MDL1+M10 y Risp0.3+M10 en todos los casos). El ANOVA también reveló un efecto del tratamiento para la densidad del SERT [$F(4,32)=4.162$; $p < 0.01$] mostrando el grupo MDL1+M10 mayores niveles que el grupo control ($p < 0.01$).

Estudio 1.

8.3. Efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la expresión del CPL inducido por MDMA.

8.3.1. Materiales y métodos.

8.3.1.1. Sujetos.

En la realización de este estudio se emplearon 150 ratones albinos macho de la cepa OF1 adquiridos comercialmente en los laboratorios Charles River (Barcelona, España). Los animales tenían 21 días de edad a su llegada a nuestro laboratorio y fueron alojados en las mismas condiciones descritas en el experimento anterior. Los procedimientos de manipulación, tratamiento y cuidado de los animales también se realizaron como se ha descrito previamente (página 170).

8.3.1.2. Aparatos y procedimiento.

Los aparatos y el procedimiento empleados en este experimento fueron los mismos a los descritos en el anterior, a excepción de que en este, los animales recibieron una administración del fármaco adecuado a cada grupo 30 minutos antes del test de preferencia (o momento del sacrificio en el caso de los animales usados para las determinaciones neuroquímicas), ya que en este estudio se pretendió evaluar el efecto de los mismos en la expresión del CPL previamente inducido por la MDMA.

8.3.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.

Los animales fueron inyectados con MDMA, Metergolina, MDL 72222 o Risperidona. Los grupos control recibieron solución salina fisiológica (NaCl 0.9%). La procedencia, dosis y preparación de los fármacos se realizó igual que en el primer experimento.

Todos los grupos recibieron 10 mg/kg de MDMA en la fase de condicionamiento, diferenciándose en el tratamiento recibido 30 minutos antes del test de preferencia (Post-C), conformando los siguientes grupos experimentales:

1. Salino (Sal).
2. Metergolina 1 mg/kg (Met 1).
3. Metergolina 2 mg/kg (Met 2).
4. MDL 72222 1 mg/kg (MDL 1).
5. MDL 72222 3 mg/kg (MDL 3).
6. Risperidona 0.1 mg/kg (Risp 0.1).
7. Risperidona 0.3 mg/kg (Risp 0.3).

Posteriormente 3 grupos adicionales (n=15) recibieron un tratamiento farmacológico equivalente al que recibieron los grupos con los que se realizó el CPL, para realizar las determinaciones neuroquímicas. Los grupos que se realizaron para estos análisis fueron:

1. Salino (Sal)
2. Metergolina 1 mg/kg (Met 1).
3. Risperidona 0.3 mg/kg (Risp 0.3).

8.3.1.4. Análisis estadístico.

Para evaluar la expresión del CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA, los datos del tiempo pasado por los animales en el compartimento asociado al fármaco fueron analizados con un ANOVA mixto para cada uno de los antagonistas empleados con una variable entre: con tres niveles en cada caso (Metergolina 0, 1 y 2 mg/kg, MDL 72222 0, 1 y 3 mg/kg o Risperidona 0, 0.1 y 0.3 mg/kg) y una variable intra "Días", con dos niveles (Pre-C y Post-C). En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

Para analizar las concentraciones de monoaminas cerebrales se empleó un ANOVA con una variable Entre "Tratamiento" con 3 niveles (Sal, Met1, Risp0.3). En los análisis post-hoc se empleó el ajuste de Bonferroni. Las diferencias en los niveles de expresión de DAT y SERT en el estriado se analizaron con ANOVAs similares a los empleados para analizar las concentraciones de monoaminas

Estudio 1.

8.3.2. Resultados.

8.3.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.

Los resultados obtenidos en la expresión del CPL pueden observarse en la Fig. 6.

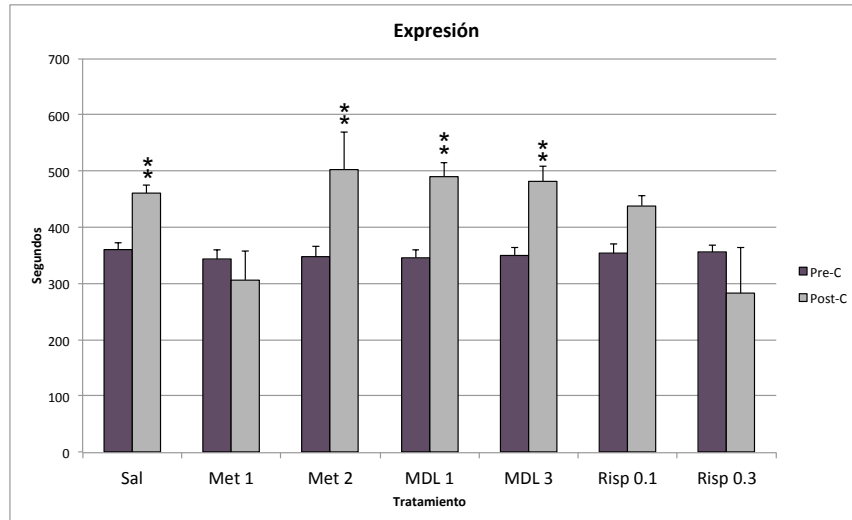


Figura 6: Efectos de los antagonistas serotoninérgicos en la expresión del CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA. Los antagonistas fueron administrados 30 minutos antes del Post-C. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris). Los grupos son: Salino (Sal, n=12), Metergolina 1 mg/kg (Met 1, n=11), Metergolina 2 mg/kg (Met 2, n=10), MDL 72222 1 mg/kg (MDL 1, n=12), MDL 72222 3 mg/kg (MDL 3, n=12), Risperidona 0.1 mg/kg (Risp 0.1, n=12), Risperidona 0.3 mg/kg (Risp 0.3, n=13). Diferencias significativas respecto al Pre-C ** p<0.01.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron metergolina reveló un efecto significativo de la variable Días [$F(1,30)=6.722$; $p<0.05$], indicando mayores tiempos de permanencia en el Post-C; un efecto significativo de la variable Metergolina [$F(2,30)=4.416$; $p<0.05$], mostrando mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado los animales que recibieron 2 mg/kg en comparación con los que recibieron 1 mg/kg; así como un efecto significativo de la interacción Días x Metergolina [$F(2,30)=3.950$; $p<0.05$]. Se observaron diferencias entre los grupos que recibieron 1 y 2 mg/kg en los tiempos de permanencia en el compartimento

asociado con MDMA el día del test ($p < 0.05$), así como diferencias entre los tiempos de permanencia en el compartimento asociado para los grupos que recibieron salino ($p < 0.05$) o 2 mg/kg de metergolina ($p < 0.01$) entre el día del Pre-C y el día del Post-C, indicando la expresión del CPL en estos dos grupos.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron MDL 72222 reveló un efecto significativo de la variable Días [$F(1,33)=78.142$; $p < 0.001$], indicando mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado con la MDMA independientemente del efecto del fármaco administrado el día del Post-C, ya que ni el efecto del MDL 72222 o la interacción "Días x MDL 72222" resultaron significativos.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron risperidona no reveló un efecto significativo para la variable "Risperidona", pero sí para la interacción "Días x Risperidona" [$F(2,33)=3.656$; $p < 0.05$], con menores tiempos de permanencia en el compartimento asociado con el fármaco en el Post-C en el grupo que recibió 0.3 mg/kg de risperidona en comparación con el grupo control ($p < 0.05$). Sólo el grupo que recibió salino antes del test mostró mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado con la MDMA en el Post-C en comparación con el Pre-C ($p < 0.05$), indicando que las dos dosis de risperidona bloquearon la expresión del CPL inducido por MDMA.

Estudio 1.

8.3.2.2. Determinaciones neuroquímicas.

8.3.2.2.1. Análisis monoaminas cerebrales.

Los resultados del análisis de las monoaminas cerebrales se muestran en la tabla 2.

		Sal	Met 1	Risp 0.3
<i>Estriado</i>	DA	13703 ± 854	18508 ± 3109	11944 ± 742
	DOPAC	1777 ± 189	960 ± 79	5146 ± 720 ***
	HVA	973 ± 164	1418 ± 155	2509 ± 264 ***
	5-HT	820 ± 69	1022 ± 103	789 ± 115
	5-HIAA	249 ± 27	514 ± 249	248 ± 38
C. Frontal	5-HT	655 ± 93	724 ± 121	785 ± 73
	5-HIAA	99 ± 8	105 ± 8	233 ± 88
Hipocampo	5-HT	416 ± 25	527 ± 48	514 ± 23
	5-HIAA	248 ± 36	247 ± 34	235 ± 18

Tabla 2: Concentración de monoaminas en estriado, córtex frontal e hipocampo. Todos los grupos fueron tratados con MDMA 10 mg/kg durante el condicionamiento y recibieron el día del test salino (Sal), metergolina 1 mg/kg (Met1) o Risperidona 0.3 mg/kg (Risp0.3). Los datos se presentan como media ± S.E.M. ** p<0.01, *** p<0.001 diferencias significativas con respecto al grupo control (Sal).

El ANOVA para los niveles de DA estriatal reveló un efecto de la variable "Tratamiento" [F(2,18)=3.689; p<0.05]. Los animales del grupo Met1 presentaron mayores niveles de DA que aquellos condicionados con Risperidona (p<0.005). La concentración estriatal de DOPAC [F(2,18)=30.696; p<0.001] y HVA [F(2,18)=18.124; p<0.001] también mostraron un efecto del Tratamiento con mayores niveles en el grupo tratado con Risperidona en comparación con el resto de grupos (p<0.001). No se observaron cambios en las concentraciones de 5-HT y 5-HIAA en ninguna de las estructuras estudiadas.

8.3.2.2.2. Determinación de los transportadores de dopamina y serotonina.

Los resultados del análisis de las concentraciones de DAT y SERT se muestran en las figuras 7 y 8.

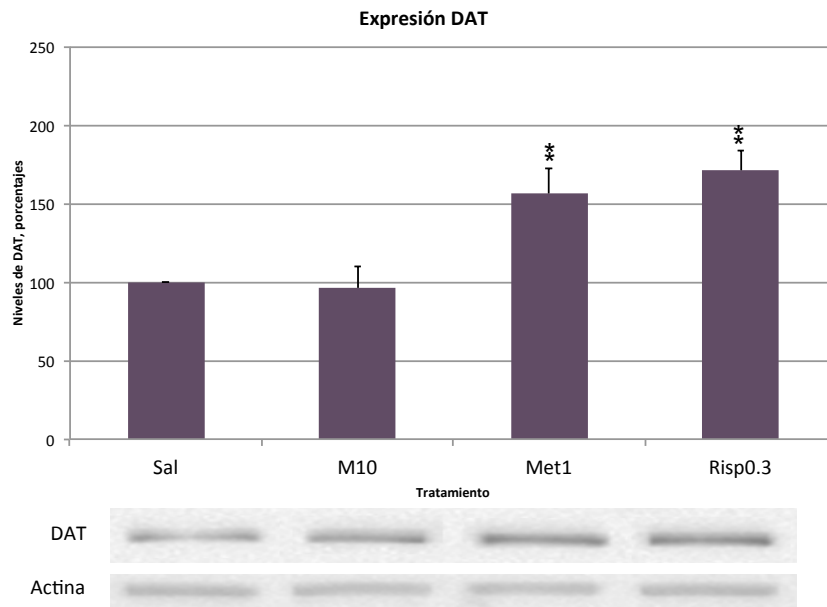


Figura 7: Concentración del DAT en el estriado. Un grupo fue tratado durante el condicionamiento con salino y recibió salino el día del test (Sal); los otros tres grupos fueron tratados con MDMA 10 mg/kg durante el condicionamiento y recibieron el día del test salino (M10), metergolina 1 mg/kg (Met1) o Risperidona 0.3 mg/kg (Risp0.3). Los datos se presentan como media \pm S.E.M. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ diferencias significativas con respecto al grupo control.

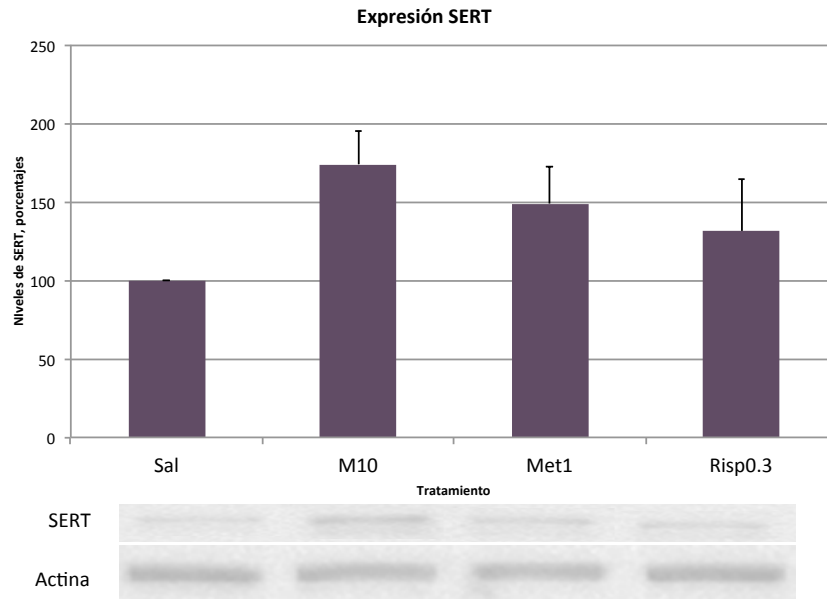


Figura 8: Concentración del SERT en el estriado. Un grupo fue tratado durante el condicionamiento con salino y recibió salino el día del test (Sal); los otros tres grupos fueron tratados con MDMA 10 mg/kg durante el condicionamiento y recibieron el día del test salino (M10), metergolina 1 mg/kg (Met1) o Risperidona 0.3 mg/kg (Risp0.3). Los datos se presentan como media \pm S.E.M. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ diferencias significativas con respecto al grupo control.

El ANOVA para la concentración del DAT en el estriado reveló un efecto del tratamiento [$F(3,27)=11.258$; $p < 0.0001$], presentando los grupos que recibieron un antagonista serotoninérgico mayores concentraciones que los grupos Sal y M10 ($p < 0.001$ en ambos casos). No se observó un efecto del tratamiento en la densidad del SERT.

8.4. Efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la reinstauración del CPL inducido por MDMA.

8.4.1. Materiales y métodos.

8.4.1.1. Sujetos.

En la realización de este estudio se emplearon 270 ratones albinos macho de la cepa OF1 adquiridos comercialmente en los laboratorios Charles River (Barcelona, España). Los animales tenían 21 días de edad a su llegada a nuestro laboratorio y fueron alojados en las mismas condiciones descritas en el primer experimento. Los procedimientos de manipulación, tratamiento y cuidado de los animales también se realizaron como se ha descrito previamente (página 170).

8.4.1.2. Aparatos y procedimiento.

Los aparatos y el procedimiento empleados en este estudio fueron los mismos a los descritos en el primer experimento, a excepción de que en este estudio, los animales recibieron los antagonistas serotoninérgicos 30 minutos antes del test de reinstauración y/o la MDMA 15 minutos antes del comienzo del mismo, ya que en este estudio se pretendió evaluar el efecto de los antagonistas en la reinstauración.

8.4.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.

Los animales fueron inyectados con MDMA, Metergolina, MDL 72222 o Risperidona. Los grupos control recibieron solución salina fisiológica (NaCl 0.9%). La procedencia, dosis y preparación de los fármacos se realizó igual que en el primer experimento.

Todos los grupos recibieron 10 mg/kg de MDMA en la fase de condicionamiento, diferenciándose en el tratamiento recibido antes del test de reinstauración, conformando los siguientes grupos experimentales:

Estudio 1.

1. Salino + Salino (Sal).
2. Salino + MDMA 5 mg/kg (M5).
3. Metergolina 1 mg/kg + Salino (Met 1).
4. Metergolina 2 mg/kg + Salino (Met 2).
5. Metergolina 1 mg/kg + MDMA 5 (Met 1+M5).
6. Metergolina 2 mg/kg + MDMA 5 (Met 2+M5).
7. MDL 72222 1 mg/kg + Salino (MDL 1).
8. MDL 72222 3 mg/kg + Salino (MDL 3).
9. MDL 72222 1 mg/kg + MDMA 5 (MDL 1+M5).
10. MDL 72222 3 mg/kg + MDMA 5 (MDL 3+M5).
11. Risperidona 0.1 mg/kg + Salino (Risp 0.1).
12. Risperidona 0.3 mg/kg + Salino (Risp 0.3).
13. Risperidona 0.1 mg/kg + MDMA 5 (Risp 0.1+M5).
14. Risperidona 0.3 mg/kg + MDMA 5 (Risp 0.3+M5).

Posteriormente 4 grupos adicionales (n=15) recibieron un tratamiento farmacológico equivalente al que recibieron los grupos con los que se realizó el CPL, para las determinaciones neuroquímicas. Los animales fueron sacrificados 15 días después de terminar el tratamiento farmacológico. Los grupos que se realizaron para estos análisis fueron:

1. Cond. Salino → Reinst. Salino + MDMA 5 (Sal-M5)
2. Cond. MDMA 10 → Reinst. Salino + MDMA 5 (M10-M5).
3. Cond. MDMA 10 → Reinst. MDL 1 + MDMA 5 (M10-MDL1+M5).
4. Cond. MDMA 10 mg/kg → Reinst. metergolina 1 + MDMA 5 (M10-Met1+M5).

8.4.1.4. Análisis estadístico.

Para evaluar el efecto de los antagonistas en la reinstauración del CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA, los datos del tiempo pasado por los animales en el compartimento asociado al fármaco fueron analizados con tres ANOVAs, con una variable entre "Tratamiento" con 6 niveles (Sal+Sal, Sal+M5, dosis baja antagonista +

Sal, dosis alta antagonista + Sal, dosis baja antagonista + M5, dosis alta antagonista + M5) y una variable intra "Días", con 4 niveles (Pre-C, Post-C, extinción y reinstauración). En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

Para analizar las concentraciones de monoaminas cerebrales se empleó un ANOVA con una variable Entre "Tratamiento" con 4 niveles (Sal+Sal, Sal+M5, Met1+M5, MDL1+M5). En los análisis post-hoc se empleó el ajuste de Bonferroni. Las diferencias en los niveles de expresión de DAT y SERT en el estriado se analizaron con ANOVAs similares a las empleadas para analizar las concentraciones de monoaminas.

8.4.2. Resultados.

8.4.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.

Los resultados obtenidos se pueden ver en las figuras 9, 10 y 11.

El ANOVA realizado con los grupos tratados con Metergolina reveló un efecto significativo de la variable Días [$F(3,53)=36.272$; $p<0.001$], indicando mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado al fármaco en el Post-C y en la Reinstauración en comparación al tiempo pasado en el Pre-C ($p<0.01$), así como mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado al fármaco en la Reinstauración en comparación con el tiempo pasado en la extinción ($p<0.01$). La variable Tratamiento no tuvo un efecto significativo [$F(5,55)=1.341$; $p>0.05$]. La interacción "Días x Tratamiento" fue significativa [$F(5,55)=2.654$; $p<0.05$]. Todos los grupos permanecieron más tiempo en el compartimento asociado al fármaco en el Post-C en comparación con el Pre-C ($p<0.05$ o $p<0.01$) y en la última extinción mostraron tiempos de permanencia similares a los mostrados en el Pre-C ($p=1.00$ en todos los casos). Los grupos Sal + M5 y Met 2+M5 mostraron mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado con el fármaco en el test de reinstauración en comparación con los tiempos registrados en el Pre-C ($p<0.05$) y en la última extinción ($p<0.05$), indicando la reinstauración de la preferencia condicionada previamente extinguida.

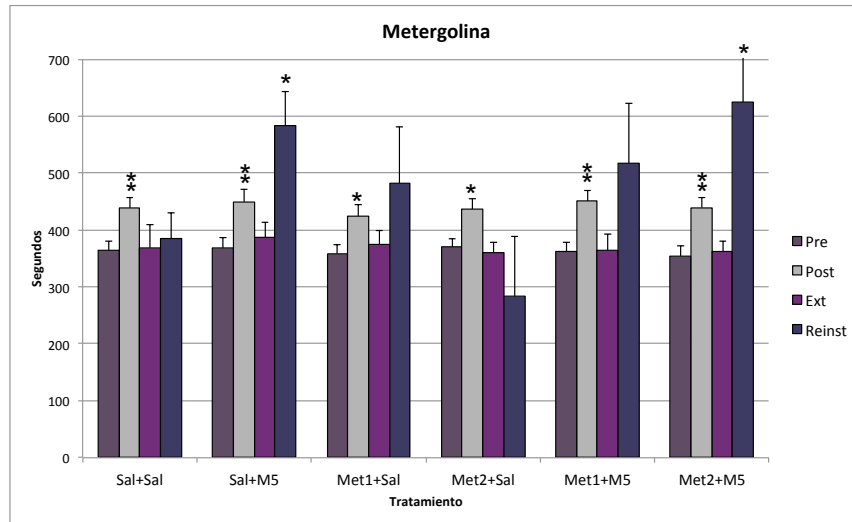


Figura 9: Reinstauración inducida por Salino + Salino (Sal, n=11), Salino + MDMA 5 mg/kg (M5, n=10), Metergolina 1 mg/kg + Salino (Met 1, n=10), Metergolina 2 mg/kg + Salino (Met 2, n=10), Metergolina 1 mg/kg + MDMA 5 (Met 1+M5, n=10), Metergolina 2 mg/kg + MDMA 5 (Met 2+M5, n=10). Los antagonistas serotoninérgicos (o la solución salina) fueron administrados 30 minutos antes del test de reinstauración y la MDMA (o solución salina) 15 minutos antes del test. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris), Extinción (fucsia) y Reinstauración (azul). Diferencias significativas respecto al Pre-C ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

El ANOVA realizado con los grupos tratados con MDL 72222 reveló un efecto significativo de la variable Días [$F(3,53)=28.425$; $p < 0.001$], indicando mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado al fármaco en el Post-C y en la Reinstauración en comparación al tiempo pasado en el Pre-C ($p < 0.01$), así como mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado al fármaco en la Reinstauración en comparación con el tiempo pasado en la extinción ($p < 0.01$). La variable Tratamiento no tuvo un efecto significativo [$F(5,55)=1.704$; $p > 0.05$]. La interacción "Días x Tratamiento" fue significativa [$F(5,55)=3.446$; $p < 0.01$]. Todos los grupos permanecieron más tiempo en el compartimento asociado al fármaco en el Post-C en comparación con el Pre-C ($p < 0.05$ o $p < 0.01$) y en la última extinción mostraron tiempos de permanencia similares a los mostrados en el Pre-C ($p = 1.00$ en todos los casos). Los grupos Sal + M5 y MDL3 + M5 mostraron mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado con el fármaco en el test de

reinstauración en comparación con los tiempos registrados en el Pre-C ($p < 0.01$) y en la última extinción ($p < 0.01$), indicando la reinstauración de la preferencia condicionada previamente extinguida.

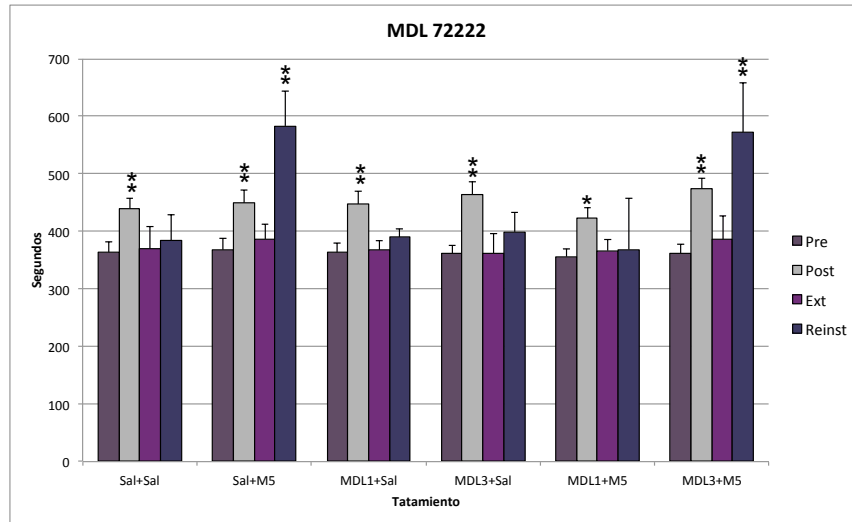


Figura 10: Reinstauración inducida por Salino + Salino (Sal, $n=11$), Salino + MDMA 5 mg/kg (M5, $n=10$), MDL 72222 1 mg/kg + Salino (MDL 1, $n=11$), MDL 72222 3 mg/kg + Salino (MDL 3, $n=11$), MDL 72222 1 mg/kg + MDMA 5 (MDL 1+M5, $n=9$), MDL 72222 3 mg/kg + MDMA 5 (MDL 3+M5, $n=9$). Los antagonistas serotoninérgicos (o la solución salina) fueron administrados 30 minutos antes del test de reinstauración y la MDMA (o solución salina) 15 minutos antes del test. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris), Extinción (fucsia) y Reinstauración (azul). Diferencias significativas respecto al Pre-C ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

El ANOVA realizado con los grupos tratados con Risperidona reveló un efecto significativo de la variable Días [$F(3,55)=32.110$; $p < 0.001$], indicando mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado al fármaco en el Post-C y en la Reinstauración en comparación al tiempo pasado en el Pre-C ($p < 0.001$), así como mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado al fármaco en la Reinstauración en comparación con el tiempo pasado en la extinción ($p < 0.001$). La variable Tratamiento tuvo un efecto significativo [$F(5,57)=3.624$; $p < 0.01$], aunque no se observaron diferencias significativas entre los grupos de tratamiento en las comparaciones post-hoc. La interacción "Días x Tratamiento" también fue significativa [$F(5,57)=7.978$; $p < 0.001$]. Todos los grupos permanecieron más tiempo en el compartimento asociado al fármaco en el Post-C en comparación con el Pre-C

Estudio 1.

($p < 0.05$ o $p < 0.01$) y en la última extinción mostraron tiempos de permanencia similares a los mostrados en el Pre-C ($p = 1.00$ en todos los casos). Los grupos Sal + M5, Risp 0.1+M5, Risp 0.3+M5 mostraron mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado con el fármaco en el test de reinstauración en comparación con los tiempos registrados en el Pre-C ($p < 0.05$) y en la última extinción ($p < 0.05$), indicando la reinstauración de la preferencia condicionada previamente extinguida.

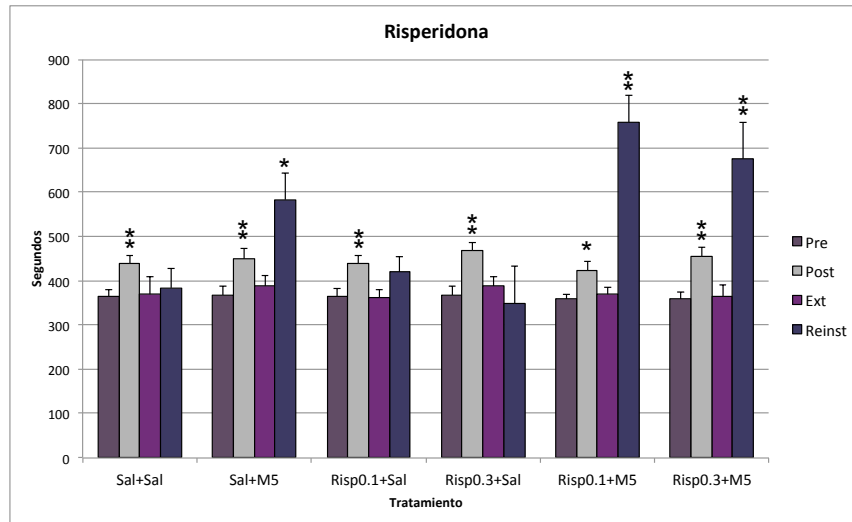


Figura 11: Reinstauración inducida por Salino + Salino (Sal, $n = 11$), Salino + MDMA 5 mg/kg (M5, $n = 10$), Risperidona 0.1 mg/kg + Salino (Risp 0.1, $n = 11$), Risperidona 0.3 mg/kg + Salino (Risp 0.3, $n = 10$), Risperidona 0.1 mg/kg + MDMA 5 (Risp 0.1+M5, $n = 10$), Risperidona 0.3 mg/kg + MDMA 5 (Risp 0.3+M5, $n = 11$). Los antagonistas serotoninérgicos (o la solución salina) fueron administrados 30 minutos antes del test de reinstauración y la MDMA (o solución salina) 15 minutos antes del test. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris), Extinción (fucsia) y Reinstauración (azul). Diferencias significativas respecto al Pre-C ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

8.4.2.2. Determinaciones neuroquímicas.

8.4.2.2.1. Análisis monoaminas cerebrales.

Los resultados del análisis de monoaminas cerebrales en el momento de la reinstauración se muestran en la tabla 3.

		Sal-M5	M10-M5	M10-MDL1+M5	M10-Met1+M5
Estriado	DA	15915 ± 491	20514 ± 951 ***	22288 ± 1000 ***	20438 ± 1022 ***
	DOPAC	1458 ± 217	683 ± 52 ***	615 ± 35 ***	1760 ± 187
	HVA	1266 ± 48	1373 ± 71	1542 ± 137	1587 ± 60
	5-HT	921 ± 99	746 ± 98	1272 ± 83 *	1363 ± 71 **
	5-HIAA	292 ± 36	218 ± 13	286 ± 34	316 ± 19
C. Frontal	5-HT	838 ± 89	1023 ± 134	922 ± 53	1114 ± 65
	5-HIAA	93 ± 8	110 ± 11	130 ± 8	124 ± 11
Hipocampo	5-HT	561 ± 53	625 ± 66	596 ± 87	680 ± 49
	5-HIAA	290 ± 34	304 ± 38	252 ± 38	271 ± 31

Tabla 3: Concentración de monoaminas en estriado, córtex frontal e hipocampo. Los animales fueron tratados con salino durante el condicionamiento y MDMA 5 mg/kg antes del test de reinstauración (Sal-M5) o MDMA 10 mg/kg durante el condicionamiento y MDMA 5 mg/kg (M10-M5), MDL 72222 1 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (M10-MDL1+M5) o Metergolina 1 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (M10-Met1+M5) antes del test de reinstauración. Los datos se presentan como media ± SEM. Diferencias con respecto al grupo Sal-M5 *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

El ANOVA para los niveles de DA estriatal reveló un efecto de la variable "Tratamiento" [F(3,28)=10.383; p<0.001]. Se observó en todos los grupos un incremento de la DA en comparación con el grupo control (p<0.01). Para la concentración estriatal de DOPAC en el estriado el ANOVA también reveló un efecto de la variable "Tratamiento" [F(3,28)=16.383; p<0.001], estando significativamente disminuido en los grupos Sal+M5 y MDL1+M5 en comparación con el resto de grupos (p<0.001). No hubieron diferencias en los niveles de HVA en el estriado.

La concentración estriatal de 5-HT mostró un efecto de la variable "Tratamiento" [F(3,28)=12.080; p<0.001] con mayores niveles observados en los grupos MDL1+M5 (p<0.05) y Met1+M5 (p<0.01) en comparación con el resto de grupos. No se observaron diferencias entre grupos en el nivel de 5-HT o 5-HIAA en el cortex frontal o en el hipocampo.

Estudio 1.

8.4.2.2.2. Determinación de los transportadores de dopamina y serotonina.

Los resultados del análisis de las concentraciones de DAT y SERT se muestran en las figuras 12 y 13.

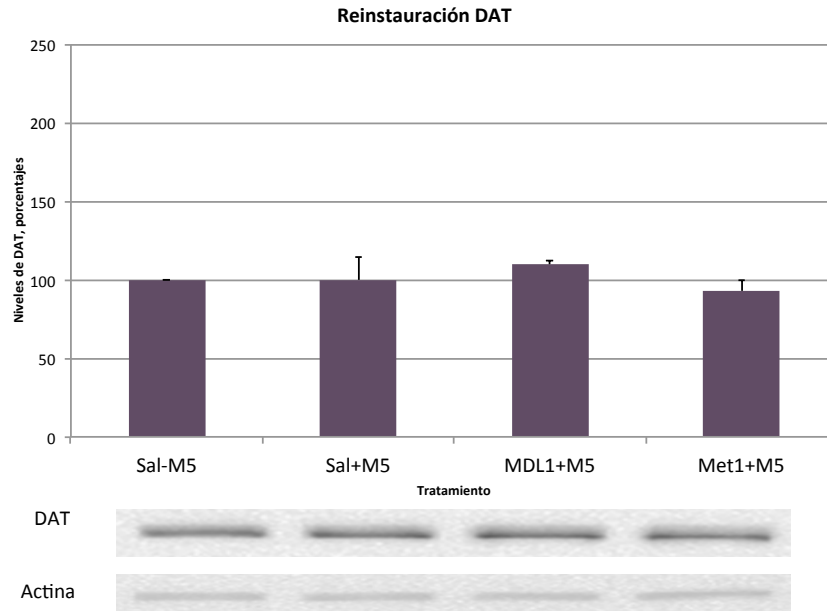


Figura 12: Concentración del DAT en el estriado. Los animales fueron tratados con salino durante el condicionamiento y MDMA 5 mg/kg antes del test de reinstauración (Sal-M5) o MDMA 10 mg/kg durante el condicionamiento y MDMA 5 mg/kg (M10-M5), MDL 72222 1 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (M10-MDL1+M5) o Metergolina 1 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (M10-Met1+M5) antes del test de reinstauración.

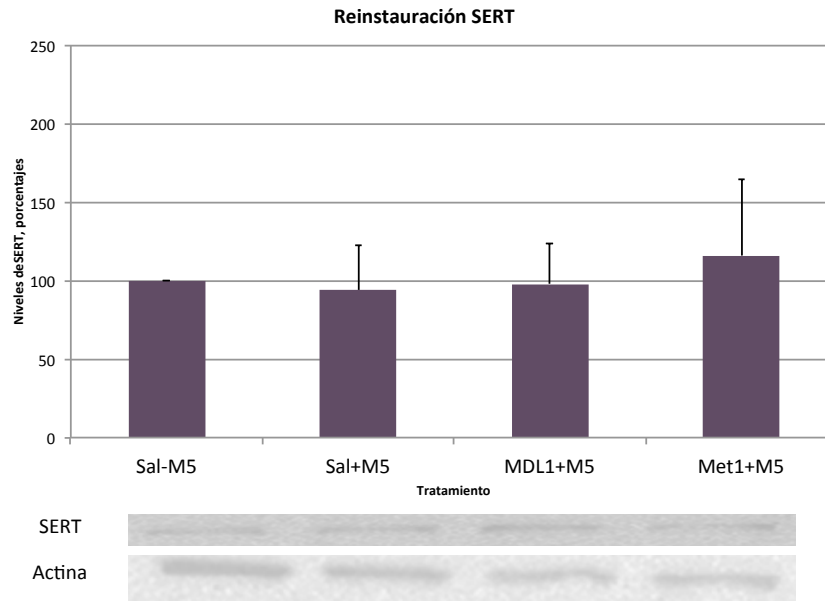


Figura 13: Concentración del SERT en el estriado. Los animales fueron tratados con salino durante el condicionamiento y MDMA 5 mg/kg antes del test de reinstauración (Sal-M5) o MDMA 10 mg/kg durante el condicionamiento y MDMA 5 mg/kg (M10-M5), MDL 72222 1 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (M10-MDL1+M5) o Metergolina 1 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (M10-Met1+M5) antes del test de reinstauración.

No se observaron diferencias en las densidades del DAT o del SERT en los grupos tratados para observar el efecto de los tratamientos en la reinstauración.

8.5. Discusión.

En estos experimentos hemos observado que el sistema serotoninérgico está implicado en los efectos reforzantes de la MDMA, aunque el papel de diferentes subtipos de receptores serotoninérgicos es diferente en cada proceso del CPL (adquisición, expresión y reinstauración). Así, los efectos observados dependen del perfil de bloqueo de los receptores serotoninérgicos de los antagonistas administrados. La dosis baja de metergolina (que bloquea de forma preferente los

Estudio 1.

receptores 5-HT₂) afecta a la expresión y a la reinstauración; el MDL 72222 (que bloquea preferentemente los receptores 5-HT₃) deteriora la adquisición y con la dosis baja bloquea la reinstauración; y la risperidona (que bloquea los receptores 5-HT₂/D₂) afecta a la adquisición (con la dosis alta) y a la expresión del CPL inducido por MDMA.

Se asume que el paradigma del CPL refleja las propiedades motivacionales secundarias y el potencial de abuso de las drogas (Di Chiara, 1999; Tzschentke, 2007). De acuerdo con esto, la administración de 10 mg/kg de MDMA induce CPL, un efecto que hemos observado previamente (Daza-Losada y cols., 2007, 2009, 2011; Rodríguez-Arias y cols., 2010; Ribeiro Do Couto y cols., 2011), mientras que la administración de diferentes antagonistas serotoninérgicos no produce efectos motivacionales por sí mismos. Una de las utilidades del CPL es que permite distinguir los efectos de los fármacos administrados en la adquisición o la expresión del aprendizaje. Además, el CPL se ha convertido en un paradigma útil para evaluar la reinstauración de la búsqueda de la droga tras su extinción (Aguilar y cols., 2009). La adquisición tiene lugar durante las sesiones de condicionamiento (en las que se asocia el efecto de la droga con un ambiente distintivo) y el aprendizaje del CPL se evalúa en los animales libres de fármaco en el Post-C. La expresión y la reinstauración se evalúan en el día del Post-C o en el test de reinstauración respectivamente, tras la administración del fármaco empleado durante el condicionamiento, de otro fármaco diferente o de su combinación.

Para evaluar los efectos de un compuesto en la adquisición del CPL inducido por MDMA, el fármaco estudiado debe administrarse durante la fase de adquisición (en combinación con la MDMA) antes de cada sesión de condicionamiento. Si durante el Post-C no se observa CPL, se asume que el compuesto experimental ha bloqueado la adquisición del CPL. Nuestros resultados confirman el importante papel de los receptores 5-HT₃ en la adquisición del CPL inducido por MDMA, ya que el antagonista MDL 72222 bloquea su adquisición, a dosis que no inducen efecto motivacional por sí mismas. Este resultado coincide con el de trabajos previos en los que se ha encontrado que los receptores 5-HT₃ median los efectos reforzantes de la MDMA en el paradigma de CPL (Bilsky y Reid, 1991; Braida y cols., 2005). De forma

similar, la administración de la dosis alta del antagonista 5-HT₂/D₂ risperidona bloquea la adquisición del CPL inducido por MDMA. También de acuerdo con estudios previos, la metergolina no afecta a la adquisición del CPL inducido por MDMA (Robledo y cols., 2004). Dado que la metergolina y la dosis baja de risperidona (que bloquea preferentemente los receptores 5-HT₂) no tienen efecto, nuestros resultados parecen indicar que los efectos observados tras la administración de la dosis alta de risperidona están más relacionados con el bloqueo de los receptores D₂ que con el bloqueo de los receptores 5-HT₂. Así, nuestros resultados indican que los receptores 5-HT₃ y D₂ son necesarios para la adquisición del CPL inducido por MDMA, mientras que los receptores 5-HT_{1/2} parecen tener una menor implicación en este proceso. De acuerdo con esta idea, en un estudio con ratones KO para los receptores 5-HT_{2B} se ha demostrado que estos receptores juegan un papel en los efectos reforzantes de una dosis baja de MDMA, pero no de una dosis alta. En ratones sin los receptores 5-HT_{2B} una dosis de 30 mg/kg de MDMA induce CPL, pero no una dosis de 10 mg/kg (Doly y cols., 2009). Por otra parte, empleando el paradigma de AA, se ha señalado que los receptores 5-HT_{2A} están implicados en el efecto reforzante de la MDMA, ya que la AA de MDMA se atenúa en macacos rhesus tras un tratamiento con ketanserina o MDL100907 (Fantegrossi y cols., 2002) y en ratones carentes de estos receptores (Orejarena y cols., 2011). Aunque la mayoría de resultados obtenidos con el modelo de CPL confirman los obtenidos con AA, en ocasiones se observan diferencias, lo cual puede deberse a diferencias en la metodología empleada (especie, cepa, edad o sexo de los animales, dosis empleadas, etc.) o a los diferentes requerimientos de respuesta para evaluar la conducta estudiada (presión de una palanca vs. desplazamiento al compartimento previamente asociado con el fármaco). Además, hay que tener en consideración que la AA y el CPL evalúan aspectos del refuerzo diferentes; los efectos reforzantes primarios y condicionados respectivamente.

Varios procesos son necesarios para la adquisición del CPL. Básicamente, el estímulo debe ser recompensante y el animal debe asociar este efecto recompensante con las claves ambientales, lo cual implica un aprendizaje asociativo. La alteración de alguno de estos procesos puede manifestarse como una reducción

en la preferencia por el compartimento asociado con el fármaco. El que los antagonistas 5-HT₃ o D₂ bloqueen el CPL inducido por MDMA significa que para uno o ambos procesos, es crítica la estimulación de estos receptores. Como en el caso de otras drogas de abuso, los estudios de microdiálisis han mostrado un incremento en la DA y 5-HT sináptica en el N. Acc. tras la administración de MDMA (Cadoni y cols. 2005; Gudelsky y Yamamoto, 2008; Colussi-Mas y cols., 2010). La ausencia de efecto de la DA en los receptores D₂ o de la 5-HT en los receptores 5-HT₃ puede impedir que los animales experimenten el efecto reforzante de la MDMA. Por otra parte, puede verse al CPL como una tarea de aprendizaje incentivo. Por consiguiente, durante las sesiones de condicionamiento, los estímulos del ambiente asociado con la MDMA adquieren una mayor capacidad para desencadenar el acercamiento y otras respuestas. Durante el test, los animales pasan más tiempo allí debido a este aprendizaje (Beninger y cols., 1989). Podría ser necesaria una neurotransmisión dopaminérgica y serotoninérgica intacta en estos receptores para la adquisición de un aprendizaje asociativo, ya que se ha demostrado que el bloqueo de los receptores 5-HT₃ bloquea la adquisición de un condicionamiento aversivo de lugar (Acquas y cols., 1990). Por otra parte, de acuerdo con nuestros resultados, la metergolina no afecta a las respuestas para obtener una recompensa condicionada, ni al efecto potenciador de esta respuesta cuando se administra anfetamina en el N. Acc (Fletcher, 1995), y se ha propuesto que el bloqueo de los receptores 5-HT₂ juega un papel insignificante para el efecto reforzante de la anfetamina, medido mediante su AA intravenosa (Fletcher, 1998).

Los grupos condicionados con MDMA sólo o MDMA junto con metergolina o junto con la dosis baja de risperidona mostraron un CPL similar en el Post-C y no se observaron diferencias significativas en la duración del CPL o en la reinstauración inducida por un priming con MDMA tras la extinción del CPL. Estos resultados indican que la metergolina y la dosis baja de risperidona no afectan al aprendizaje incentivo inducido por MDMA, evaluado por su duración o por la susceptibilidad a la reinstauración tras una dosis priming de la droga.

Como hemos informado previamente, el CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA no induce alteraciones en los niveles de DA o 5-HT en el momento del test, aunque

produce un descenso en el nivel de HIAA en el estriado (Daza-Losada y cols., 2007). El bloqueo del CPL inducido por MDMA que producen el MDL72222 y la risperidona se acompaña de un incremento en la concentración de DA en el estriado, aunque este efecto sólo es significativo con la dosis alta de MDL72222, junto con un descenso en los niveles de DOPAC. Los antagonistas empleados no revirtieron el descenso en los niveles de 5-HIAA en el estriado inducido por la MDMA ya que este efecto también es evidente en los grupos tratados con MDL 72222 y risperidona. No se observaron cambios en la concentración del DAT o el SERT tras la administración de MDMA, pero la coadministración de los antagonistas serotoninérgicos (MDL o risperidona) incrementa la concentración del DAT, y la administración de la dosis baja de MDL72222 junto con MDMA incrementa la concentración del SERT. Estos resultados están de acuerdo con la observación de que los neurolépticos incrementan la tasa de disparo de las neuronas dopaminérgicas y la liberación sináptica de DA (Blaha y Lane, 1984) así como con los estudios que observan el papel mediador de los receptores 5-HT₃ en la liberación de DA (Dremenkov y cols., 2006).

Para evaluar el efecto de un fármaco en la expresión del CPL inducido por MDMA, el fármaco debe administrarse sólo el día del test tras realizarse el condicionamiento con MDMA. Si durante el Post-C no se observa CPL, el fármaco ha bloqueado la expresión. Nuestros datos indican que los receptores 5-HT₂ y D₂ están implicados en la expresión del CPL, ya que se bloquea con la dosis baja de metergolina y por ambas dosis de risperidona. La falta de efecto de la dosis alta de metergolina podría explicarse por el efecto de este fármaco en otros receptores, lo cual pudiera contrarrestar el efecto inducido por un bloqueo más selectivo de los receptores 5-HT₂ (Kennett, 1993), por ejemplo, la metergolina puede actuar como agonista en los receptores 5-HT_{1D} (Miller y cols., 1992). El bloqueo de los receptores 5-HT₂ también reduce la expresión del CPL inducido por cocaína (Rademacher y cols., 2000). Respecto al efecto de la risperidona, nuestros resultados sugieren que el antagonismo de los receptores 5-HT₂ puede ser suficiente para bloquear la expresión del CPL inducido por MDMA, aunque este efecto puede verse facilitado por el bloqueo simultáneo de los receptores D₂. La falta de efecto del MDL 72222 en

Estudio 1.

la expresión del CPL inducido por MDMA indica que el papel de los receptores 5-HT₃ no es crítico para este proceso. Se han obtenido resultados similares con cocaína; así, el MDL 72222, a pesar de deteriorar la adquisición del CPL inducido por cocaína, no afecta a su expresión (Kankaanpää y cols., 2002).

Los animales condicionados con MDMA que fueron tratados con risperidona antes del test de Post-C mostraron mayores niveles de DOPAC y HVA en el estriado, mientras que los ratones tratados con metergolina o risperidona mostraron un incremento en el DAT. En el caso de la risperidona se ha observado una tendencia hacia un descenso en los niveles de DA en el estriado, aunque esta no alcanza la significación estadística, junto con un incremento en los niveles de DOPAC y HVA. Cabe la posibilidad que la risperidona esté produciendo una mayor liberación de DA junto con un incremento en los mecanismos de finalización de su actividad, esto es, un mayor metabolismo junto con una mayor recaptación, ya que tanto los metabolitos como el DAT se incrementan en el grupo que recibe risperidona. Así, a pesar de observarse estos incrementos en los mecanismos de finalización, no llega a observarse un descenso en los niveles de DA. De acuerdo con esta idea, un estudio con microdiálisis en ratas encontró que la administración de risperidona (0.2 y 2 mg/kg) incrementa tanto la liberación de DA como su metabolismo, en proporciones similares en el N. Acc, CPF medial y estriado lateral (Hertel y cols., 1996). Así, tanto la DA liberada por la risperidona como la liberada por la exposición al ambiente asociado con la MDMA sería contrarrestada por estos mecanismos de finalización, lo que podría contribuir a explicar el bloqueo de la expresión del CPL, ya que la DA liberada en respuesta al ambiente asociado con la MDMA sería menos efectiva.

En el caso de la metergolina el incremento que se observa en la expresión del DAT podría contribuir a explicar el bloqueo de la expresión del CPL ya que la DA liberada en respuesta al ambiente asociado con la MDMA sería efectiva durante menos tiempo, modificando la respuesta de los animales en respuesta en dicho ambiente.

Para evaluar el efecto de un compuesto experimental en la reinstauración del CPL inducido por MDMA, éste debe ser administrado antes del test de reinstauración (tras el condicionamiento con el MDMA administrado sólo y tras la extinción de la preferencia condicionada) sólo o junto con MDMA. Si durante el test de

reinstauración no se observa CPL, esto indica que el fármaco no induce reinstauración o bien que ha bloqueado el efecto reinstaurador de la MDMA. Las memorias de las asociaciones entre las claves y las propiedades recompensantes de las drogas de abuso son difíciles de extinguir y contribuyen de forma significativa a la elevada vulnerabilidad a la recaída (Kalivas y O'Brien, 2008). Nuestros resultados confirman que tras la extinción del CPL inducido por MDMA en ratones adolescentes, una dosis priming de 5 mg/kg de MDMA produce la reinstauración de la preferencia (Daza-Losada, 2007, 2009; Ribeiro Do Couto y cols., 2011a, 2011b). Además, este es el primer trabajo en demostrar que los receptores 5-HT₃ están implicados en la reinstauración inducida mediante priming del CPL inducido por MDMA. Las dosis bajas de metergolina y MDL 72222 bloquearon el efecto reinstaurador de la MDMA. Estudios previos han demostrado que la implicación del sistema serotoninérgico en la reinstauración del CPL inducido por MDMA y de su AA. La reinstauración mediante priming del CPL inducido por MDMA se bloqueó completamente en ratones tratados con el antagonista 5-HT_{2B} RS127445 (Doly y cols., 2009) y la reinstauración de la AA de MDMA se bloqueó mediante el antagonista 5-HT_{2A} SR46349B (Orejarena y cols., 2011) y por el ISRS clomipramina (Schenk y cols., 2011). Además, los diferentes subtipos de receptores serotoninérgicos están implicados de diferente forma en la reinstauración de la AA de cocaína (una revisión sobre este tema ha sido realizada por Filip y cols., 2010). Así, la reinstauración de la AA de cocaína inducida mediante priming se bloquea mediante la administración de antagonistas de los receptores 5-HT_{1A} (Burmeister y cols., 2004), 5-HT_{1B} (Przegalinski y cols., 2008), 5-HT_{2A} (Fletcher y cols., 2002; Filip, 2005) y 5-HT₆ (Fijal y cols., 2010); pero no mediante antagonistas de 5-HT_{2A/C} (Burmeister y cols., 2004) o antagonistas selectivos de los receptores 5-HT_{2C} (Fletcher y cols., 2002; Burmeister y cols., 2004; Filip, 2005). La reinstauración de la AA de cocaína inducida por claves ambientales se bloquea mediante la administración de antagonistas de los receptores 5-HT_{1B} (Przegalinski y cols., 2008), 5-HT_{2A} (Filip, 2005; Nic Dhonnchadha y cols., 2009; Pockros y cols., 2011) o 5-HT_{2A/C} (Burmeister y cols., 2004), o agonistas de los receptores 5-HT_{1B} (Acosta y cols., 2005; Pentkowski y cols., 2009) o 5-HT_{2C} (Neisewander y Acosta, 2007; Pentkowski y cols., 2010); pero no mediante el bloqueo específico de los receptores 5-HT_{1A} (Cervo

Estudio 1.

y cols., 2003; Burmeister y cols., 2004) o 5-HT_{2C} (Burmeister y cols., 2004; Filip, 2005).

Los resultados observados con cocaína tras el bloqueo selectivo de los receptores 5-HT puede explicar el hecho de que sólo la dosis baja de metergolina resultara efectiva para el bloqueo de la reinstauración del CPL inducido por MDMA. Es posible que la dosis baja de metergolina produzca un bloqueo preferente de los receptores 5-HT_{2A}, un efecto implicado en la atenuación de la reinstauración mediante priming y mediante claves de la AA de cocaína (Fletcher y cols., 2002; Filip, 2005; Nic Dhonnchadha y cols., 2009; Pockros y cols., 2011) y de la reinstauración del CPL inducido por MDMA (Orejarena y cols., 2011), mientras que dosis altas también bloquearían otros receptores como los 5-HT₁ y 5-HT_{2C} (siendo ambos efectos inefectivos para modificar la reinstauración de la AA de cocaína, como se ha mencionado previamente).

Con respecto al efecto del MDL 72222, es más difícil explicar porqué sólo la dosis baja es efectiva para bloquear la reinstauración del CPL inducido por MDMA ya que no existen estudios sobre el bloqueo selectivo de los receptores 5-HT₃ en la reinstauración de cocaína. Sin embargo, se ha informado que el bloqueo de los receptores 5-HT₃ atenúa la reinstauración de la AA de alcohol inducida por estrés (Le y cols., 2006) y que el bloqueo de estos receptores junto con un agonista dopaminérgico reduce la reinstauración inducida por priming de la AA de metanfetamina (Davidson y cols., 2007). Estos estudios apuntan en la misma dirección que nuestros resultados; esto es, el bloqueo de la reinstauración del CPL inducido por MDMA tras el antagonismo de los receptores 5-HT₃ mediante dosis bajas de MDL 72222. Aunque el MDL 72222 es altamente selectivo en el bloqueo de los receptores 5-HT₃ (Fozard, 1984), es posible que la dosis alta afecte a otros receptores serotoninérgicos o incluso a receptores de otros neurotransmisores, y que estos efectos interfieran en la capacidad del bloqueo de los receptores 5-HT₃ para reducir la reinstauración del CPL inducido por MDMA.

Este estudio también confirma que los receptores D₂ no son críticos para la reinstauración del CPL inducido por MDMA. Por el contrario, en un trabajo reciente,

Schenk y cols. (2011) observaron que un pretratamiento con el antagonista D₂ eticlopride disminuyó la reinstauración de la AA de MDMA. Como se ha comentado previamente, los paradigmas de AA y CPL evalúan aspectos diferentes del refuerzo, y de esta forma, características diferentes de la recaída y de la conducta adictiva. La reinstauración de la AA tras la extinción implica la restauración de una conducta operante concreta, mientras que la reinstauración del CPL consiste en la reaparición de una conducta de aproximación a un contexto asociado a la droga (Aguilar y cols., 2009). Se han encontrado divergencias en los efectos de diversos fármacos en la reinstauración cuando se emplean ambos paradigmas. La manipulación de la neurotransmisión DA bloquea la reinstauración de la AA de heroína (Ettenberg y cols., 1996; Shaham y Stewart, 1996; De Vries y cols., 2002), pero no la reinstauración del CPL inducido por morfina (Ribeiro Do Couto y cols., 2005b). De forma similar, el agonista D₁ SKF 81297 reinstaura el CPL (Graham y cols., 2007) pero atenúa la reinstauración de la AA de cocaína mediante priming o mediante claves ambientales (Self y cols., 1996; Alleweireldt y cols., 2002).

El priming con MDMA incrementa la DA y disminuye los niveles de DOPAC en el estriado. Se observan efectos similares tras los antagonistas serotoninérgicos, ambos incrementan la DA y el MDL 72222 disminuye los niveles de DOPAC. Además, los antagonistas serotoninérgicos inducen un incremento en los niveles de 5-HT en el estriado, lo que puede estar relacionado con el bloqueo de la reinstauración de MDMA. No se observaron cambios en el DAT o el SERT tras un priming de MDMA sólo o en combinación con MDL 72222 o metergolina.

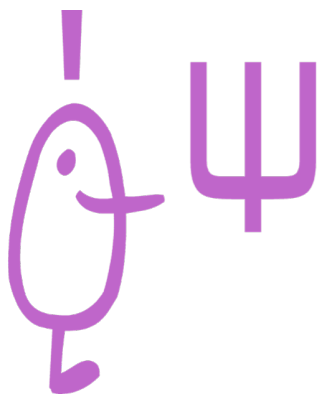
Además de la 5-HT, otros neurotransmisores pueden estar implicados en la reinstauración de la conducta de búsqueda de MDMA, como por ejemplo el sistema cannabinoide (Manzanedo y cols., 2010; Daza-Losada y cols., 2011) o el sistema glutamatérgico, también implicado en el CPL inducido por morfina (Ribeiro Do Couto y cols., 2005b) y psicoestimulantes (Maldonado y cols., 2007; Sadler y cols., 2007). Investigaciones futuras permitirán determinar la implicación del sistema glutamatérgico en la reinstauración del CPL inducido por MDMA así como el efecto combinado de antagonistas serotoninérgicos, dopaminérgicos, glutamatérgicos y cannabinoideos en los efectos reforzantes de la MDMA.

Estudio 1.

Como conclusión, en el presente estudio hemos demostrado que el sistema serotoninérgico está implicado en la adquisición, expresión y reinstauración del CPL inducido por MDMA, mientras que el sistema dopaminérgico parece implicado en la adquisición y la expresión, aunque no parece críticamente implicado en la reinstauración del CPL inducido por MDMA en ratones adolescentes. El creciente conocimiento acerca de las bases neurobiológicas de los efectos reforzantes de la MDMA puede ayudar a diseñar las terapias adecuadas para aquellos consumidores que desarrollan dependencia o tienen problemas para abandonar su consumo.

Estudio 2:

Efectos de la inhibición de la
recaptación de serotonina sobre la
adquisición y reinstauración del CPL
inducido por MDMA



9.1. Introducción.

Diferentes datos provenientes de estudios en animales y en humanos, señalan a la MDMA como una droga con potencial de abuso. Así, diferentes especies animales como babuinos, macacos rhesus, ratas y ratones, se autoadministran MDMA (Beardsley y cols., 1986; Lamb y Griffiths, 1987; Ratzenboeck y cols., 2001; Braida y Sala, 2002; Fantegrossi y cols., 2002; Cornish y cols., 2003; Schenk y cols., 2003, 2007, 2008, 2011a; Lile y cols., 2005; Trigo y cols., 2006, 2007; Ball y cols., 2007; Touriño y cols., 2008; Orejarena y cols., 2009, 2011; Schenk, 2009; Ruiz-Medina y cols., 2011). La MDMA desciende el umbral para la autoestimulación intracraneal en el haz prosencefálico medial (Hubner y cols., 1988) y en el N. Acc. (Lin y cols., 1997), es capaz de establecer CPL en ratas y ratones (Bilsky y cols., 1990, 1991, 1998; Bilsky y Reid, 1991; Schechter, 1991; Marona-Lewicka y cols., 1996; Meyer y cols., 2002; Cole y cols., 2003a; Salzmann y cols., 2003; Robledo y cols., 2004a y 2004b; Braida y cols., 2005; Herzig y cols., 2005; Diller y cols., 2007; Daza-Losada y cols., 2007, 2009, 2001; Rodríguez-Alarcón y cols., 2007; Feduccia y Duvauchelle, 2008; Chen y cols., 2008; Marie-Claire y cols., 2008; Touriño y cols., 2008; Belkai y cols., 2009; Catlow y cols., 2010; Manzanedo y cols., 2010; Rodríguez-Arias y cols., 2010; Do Couto y cols., 2011a, 2011b) y de reinstaurar una preferencia condicionada previamente extinguida (Daza-Losada y cols., 2007, 2009, 2011; Doly y cols., 2009; Manzanedo y cols., 2010; Rodríguez-Arias y cols., 2010; Ribeiro Do Couto y cols., 2011a, 2011b).

Distintos sistemas de neurotransmisión están implicados en los efectos recompensantes de la MDMA. La DA tiene un importante papel en la recompensa producida por los reforzadores naturales y las drogas de abuso. Se piensa que el sistema dopaminérgico mesolímbico, con sus aferencias glutamatérgicas y sus eferencias GABAérgicas desde el N. Acc son los componentes más importantes del circuito cerebral de recompensa (Wise, 2005). Una característica común de las drogas de abuso es su habilidad para producir un incremento en la DA extracelular en el N. Acc (Willuhn y cols., 2010), como lo hace la MDMA (Yamamoto y Spanos, 1988; White y cols., 1994, 1996; Marona-Lewicka y cols., 1996; Koch y Galloway, 1997; Camarero y cols., 2002; Bankson y Yamamoto, 2004; Robledo y cols., 2004b; Cadoni y cols., 2005; O'Shea y cols., 2005; Amato y cols., 2007; Trigo y cols., 2007;

Estudio 2.

Feduccia y Duvauchelle, 2008; Touriño y cols., 2008; Reveron y cols., 2010; Kehr y cols., 2011; Orejarena y cols., 2011). Los receptores tipo D₁ y tipo D₂ están implicados en el mantenimiento de la AA de MDMA (Brennan y cols., 2009). El SCH23390, antagonista D₁, produce un desplazamiento a la derecha en la curva dosis respuesta a la MDMA, de forma que las respuestas para obtener la dosis menor se reducen, mientras que las respuestas para obtener dosis mayores se incrementan (Daniela y cols., 2004). Por su parte, el eticlopride, antagonista DA D₂, incrementa la tasa de respuestas mantenida por la MDMA (Brennan y cols., 2009). Además, el inhibidor de la liberación de DA, el CGS 10746B, bloquea el establecimiento del CPL inducido por MDMA (Bilsky y cols., 1998).

La MDMA libera principalmente 5-HT presináptica y en menor medida NA y DA (Schmidt., 1987; Kankaanpaa y cols., 1998; Baumann y cols., 2005). Se piensa que el efecto sobre la 5-HT se debe a la inversión del funcionamiento del SERT (Rudnick y Wall, 1992) y que la liberación de DA inducida por la MDMA parece depender de esta interacción entre la MDMA y el SERT (Gudelsky y Nash, 1996; Koch y Galloway, 1997). En humanos, la MDMA produce un estado emocional con euforia, estado de ánimo elevado, mayor auto-confianza y extroversión, moderada desrealización, e intensificación de la percepción sensorial. La mayoría de estos efectos se reducen marcadamente con la administración de citalopram o fluoxetina, sugiriendo que el efecto psicológico de la MDMA está mediado por su acción en el SERT (Stein y Rink, 1999; Liechti y cols., 2000a; Liechti y Vollenweider, 2001; Tancer y Johanson, 2007). De acuerdo con esto diferentes estudios en animales demuestran que los ISRSs inhiben la capacidad de la MDMA para liberar 5-HT, probablemente porque impiden la recaptación de MDMA por parte de las neuronas serotoninérgicas (Hekmatpanah y Peroutka 1990; Berger y cols., 1992; Mehan y cols., 2002; Rudnick y Wall 1992; Gudelsky y Nash 1996). La fluoxetina previene el incremento en la actividad motora producido por la MDMA (Callaway y cols., 1990) o el descenso a largo plazo en la concentración de 5-HT en ratas (Malberg y cols., 1996; Sánchez y cols., 2001), pero no tiene este efecto neuroprotector en ratones, en los que el GBR 12909 un inhibidor de la recaptación de DA, si que tuvo efecto neuroprotector (O'Shea y cols., 2001).

Sin embargo, en un trabajo de McCann y Ricaurte (1993) 4 usuarios de MDMA informan de que el consumo de fluoxetina, previo al consumo de MDMA no altera su efecto reforzante. Aunque se ha informado que la fluoxetina incrementa el umbral de refuerzo para la autoestimulación en el ATV y en el haz prosencefálico medial (Lee y Kornetsky, 1998), diferentes ISRSs como la fluoxetina, la paroxetina y la sertralina pueden inducir CPL (Collu y cols., 1997a, Subhan y cols., 2000a, 2000b). En un trabajo de Hall y cols. (2002) los ratones KO para el DAT o para el NET desarrollaron CPL inducido por fluoxetina, aunque los ratones WT no lo hicieron. La fluoxetina potencia el CPL inducido por morfina (Subhan y cols., 2000b) desciende la AA de cocaína, anfetamina y etanol (Yu y cols., 1986; Murphy y cols., 1988; Haraguchi y cols., 1990; Carroll y cols., 1990; Peltier y Schenk, 1993; Oleson y cols., 2011) y potencia la estimulación motora producida por quinpirole, un agonista de los receptores D₂/D₃ (Collu y cols., 1997a). La paroxetina y la fluvoxamina reducen la aversión condicionada producida por la abstinencia a morfina en ratas (Rafieian-Kopaei y cols., 1995). En este sentido, ratas lesionadas con 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-DHT) en el N. Acc. mostraron un CPL inducido por morfina atenuado y no llegaron a mostrar CPL inducido por diazepam, aunque el CPL inducido por anfetamina no mostró diferencias con los animales controles (Spyraki y cols., 1988).

En humanos la fluoxetina reduce el craving de cocaína (Covi y cols., 1995), aunque no reduce su consumo en pacientes dependientes de cocaína y opiáceos (Winstanley y cols., 2011). De hecho, existen algunos informes sobre abuso de antidepresivos, habitualmente en pacientes con historial de abuso de otras sustancias (Pagliaro y Pagliaro, 1993; Tinsley y cols., 1994; Gross, 1996; Menecier y cols., 1997) y se ha informado de reacciones de abstinencia a la interrupción de tratamientos con antidepresivos, particularmente con ISRS (Coupland y cols., 1996; Black y cols., 1997, 2000; Bogetto y cols., 2002; Nielsen y cols., 2011). Sin embargo la fluoxetina bloquea el CPL y reduce la sensibilización motora inducida por metanfetamina (Takamatsu y cols., 2006).

Además, la relación entre DA y 5-HT es compleja ya que depende de la región cerebral, del estado de la actividad dopaminérgica, así como de la gran cantidad de subtipos de receptores serotoninérgicos. Los receptores serotoninérgicos se dividen en 7 categorías, 5-HT₁ a 5-HT₇. El subtipo 5-HT₁ puede subclasificarse en 5-HT_{1A}, 5-

Estudio 2.

HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, y 5-HT_{1F} (el subtipo 5-HT_{1C} se renombró como 5-HT_{2C} por su similitud operacional y transduccional con los receptores 5-HT₂); el subtipo 5-HT₂ se subdivide en 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}. Estos receptores se localizan postsinápticamente en relación a las neuronas serotoninérgicas, mientras que los subtipos 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{1D} se localizan también presinápticamente en los núcleos del rafe y en áreas terminales (Ciccocioppo, 1999; Hannon y Hoyer, 2008). Los receptores postsinápticos de la 5-HT también juegan un papel importante en los efectos de la MDMA. La MDMA posee una gran afinidad por el SERT y una afinidad moderada por los receptores postsinápticos 5-HT₂ (Battaglia y cols., 1988) actuando como un agonista 5-HT₂ a dosis altas (Teitler y cols., 1990). Las alteraciones perceptivas de la MDMA parecen deberse a la estimulación del receptor 5-HT₂, aunque un antagonista de estos receptores no modificó el estado de ánimo positivo y el bienestar producidos por la MDMA (Liechti y cols., 2000a; Liechti y Vollenweider, 2001). El pretratamiento con pindolol, un antagonista mixto de los adrenoreceptores beta y de los receptores 5-HT_{1A} solo ejerce un efecto modulador menor en los efectos psicológicos de la MDMA, por lo que la estimulación de los receptores 5-HT_{1A} no parece implicada en los efectos cognitivos y psicológicos de la MDMA en humanos (Hasler y cols., 2009). En animales experimentales se ha demostrado la implicación del sistema serotoninérgico en los efectos recompensantes de la MDMA. Pretratamientos con 0.1 o 0.3 mg/kg de ketanserina o MDL100907, antagonistas 5-HT₂, atenúan las respuestas operantes para obtener S(+)-MDMA, y anulan las respuestas para el R(-)-MDMA en macacos Rhesus, lo que sugiere que la estimulación de los receptores 5-HT_{2A} es necesaria para los efectos reforzantes de la MDMA (Fantegrossi y cols., 2002), y la AA de MDMA también se reduce en ratones KO para el receptor 5-HT_{2A} en comparación con ratones WT (Orejarena y cols., 2011). La MDMA no mantiene la AA intravenosa en ratones knockout (KO) para el SERT con dosis efectivas en ratones WT (Trigo y cols., 2007). El CPL inducido por MDMA (10 mg/kg) en ratones WT no se observó en ratones KO para los receptores 5-HT_{2B}; sin embargo, una dosis alta de MDMA (30 mg/kg) produjo CPL tanto en ratones WT como en los KO para los receptores 5-HT_{2B} (Doly y cols., 2009). En el paradigma de CPL, se ha demostrado que los receptores 5-HT₃ también participan en los efectos recompensantes de la MDMA, ya que el MDL 72222 bloquea el CPL inducido por MDMA (Bilsky y Reid, 1991; Braida y cols., 2005).

Otros neurotransmisores también parecen contribuir a modular los efectos recompensantes de la MDMA, como los opioides endógenos (Bilsky y cols., 1991; Braida y cols., 2005; Belkai y cols., 2009), endocannabinoides (Braida y Sala, 2002; Braida y cols., 2005; Touriño y cols., 2008; Manzanedo y cols., 2010; Rodríguez-Arias y cols., 2010), neurotensina (Marie-Claire y cols., 2008) y adenosina (Ruiz-Medina y cols., 2011).

El papel de los sistemas de neurotransmisión en la reinstauración de los efectos recompensantes de la MDMA ha sido menos estudiado. La reinstauración de la búsqueda de la droga tras la extinción de la AA, inducida por un priming de MDMA, se correlaciona con la DA producida por la MDMA en el estriado dorsal y con la sensibilidad para adquirir la AA de MDMA (Colussi-Mas y cols., 2010). Además, la reinstauración inducida por MDMA se bloqueó completamente en ratones tratados con el antagonista 5-HT_{2B} RS127445, indicando que la estimulación de receptores 5-HT_{2B} es necesaria para la reinstauración del CPL inducido por MDMA (Doly y cols., 2009). La reinstauración de la AA de MDMA inducida por claves fue bloqueada por un antagonista selectivo de los receptores 5-HT_{2A}, el SR46349B (eplivanserina) (Orejarena y cols., 2011) y el inhibidor de la recaptación de 5-HT y NA, clomipramina, el antagonista de los receptores D₁ SCH23390 y el antagonista de los receptores D₂, eticlopride, la atenuaron (Schenk y cols., 2011).

El objetivo del presente estudio es comprobar si la inhibición de la recaptación de 5-HT puede potenciar los efectos recompensantes y reinstauradores de la MDMA en el paradigma de CPL en ratones adolescentes. Así, hemos observado el efecto de la fluoxetina en la adquisición y en la reinstauración del CPL inducido por dosis no efectivas de MDMA.

Estudio 2.

9.2. Efectos de la fluoxetina sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.

9.2.1. Materiales y métodos.

9.2.1.1. Sujetos.

En la realización de este estudio se emplearon un total de 90 ratones albinos macho de la cepa OF1 adquiridos comercialmente en los laboratorios Charles River (Barcelona, España). Los animales tenían 21 días de edad a su llegada a nuestro laboratorio y fueron alojados en las condiciones descritas en el primer experimento. Los procedimientos de manipulación, tratamiento y cuidado de los animales también se realizaron como se ha descrito previamente.

9.2.1.2. Aparatos y procedimiento.

Los aparatos y el procedimiento empleados en este experimento fueron los mismos a los descritos en el primer experimento, a excepción de que en este, los animales recibieron la fluoxetina 30 minutos antes de la sesión de condicionamiento y/o la MDMA inmediatamente antes del comienzo de la misma, ya que en este estudio se pretendió evaluar el efecto del inhibidor de la recaptación de 5-HT en la adquisición del CPL inducido por 1.25 mg/kg de MDMA.

9.2.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.

Los animales fueron inyectados con MDMA y/o clorhidrato de fluoxetina (Laboratorios Tocris bioscience). Los grupos control recibieron solución salina fisiológica (NaCl 0.9%), que fue empleada igualmente para disolver los fármacos.

Los animales recibieron los fármacos durante la fase de condicionamiento, 30 minutos antes en el caso de la fluoxetina e inmediatamente antes del condicionamiento en el caso de la MDMA. Los grupos experimentales fueron los siguientes:

1. Salino (Sal).
2. Fluoxetina 1 mg/kg (Fluox 1).
3. Fluoxetina 10 mg/kg (Fluox 10).
4. Salino + MDMA 1.25 mg/kg (Sal+ M1.25).
5. Fluoxetina 1 mg/kg + MDMA 1.25 mg/kg (Fluox 1+M1.25).
6. Fluoxetina 10 mg/kg + MDMA 1.25 mg/kg (Fluox 10+M1.25).

Posteriormente 2 grupos adicionales (n=15) recibieron un tratamiento farmacológico equivalente al que recibieron los grupos con los que se realizó el CPL, para realizar las determinaciones neuroquímicas. Los grupos que se realizaron para estos análisis fueron:

1. Salino + MDMA 1.25 mg/kg (Sal+ M1.25).
2. Fluoxetina 10 mg/kg + MDMA 1.25 mg/kg (Fluox 10+M1.25).

9.2.1.4. Análisis estadístico.

Para evaluar el efecto de la inhibición de la recaptación de 5-HT en la adquisición del CPL inducido por 1.25 mg/kg de MDMA, los datos del tiempo pasado por los animales en el compartimento asociado al fármaco fueron analizados con dos ANOVAs con una variable entre "Fluoxetina" con 3 niveles (Sal, Fluox 1, Fluox 10) y una variable intra "Días", con 2 niveles (Pre-C y Post-C). Se realizó un ANOVA para los grupos que recibieron sólo fluoxetina y otro para los grupos que recibieron fluoxetina y MDMA. En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

Para evaluar el efecto de la inhibición de la recaptación de 5-HT durante el tratamiento con 1.25 mg/kg de MDMA en los niveles de monoaminas, se realizó una prueba t comparando los grupos "Sal+ M1.25" y "Fluox 10+M1.25".

Estudio 2.

9.2.2. Resultados.

9.2.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.

Los resultados obtenidos se pueden ver en las figuras 14 y 15.

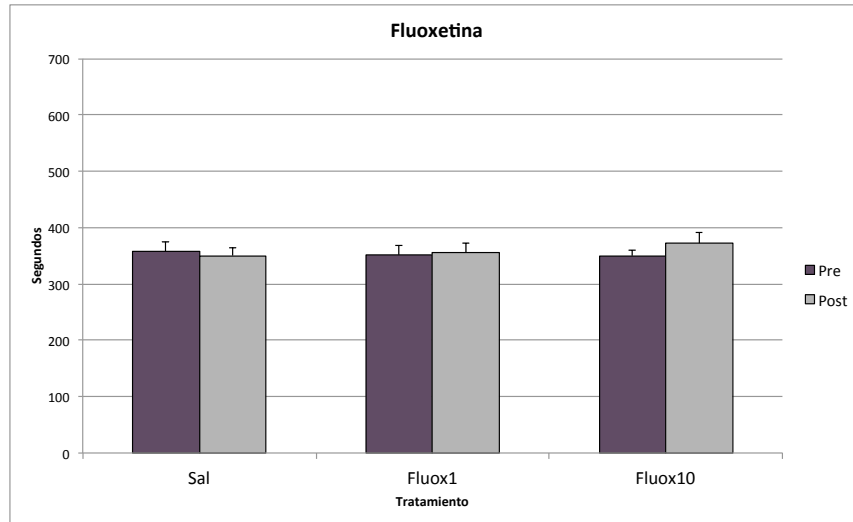


Figura 14: Efectos de la fluoxetina sobre la adquisición del CPL. El fármaco se administró 30 minutos antes del condicionamiento. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris). Los grupos son: Salino (Sal; n=12), Fluoxetina 1 mg/kg (Fluox 1; n= 13) y Fluoxetina 10 mg/kg (Fluox 10; n=14).

El ANOVA de los grupos que recibieron exclusivamente fluoxetina no mostró ningún efecto significativo para ninguna de las variables [Días: $F(1,36)=0.305$; $p=0.584$; Fluoxetina: $F(2,36)=0.130$; $p=0.878$], ni tampoco para su interacción [$F(2,36)=0.533$; $p=0.591$], indicando que la fluoxetina en las dosis empleadas no induce efectos motivacionales.

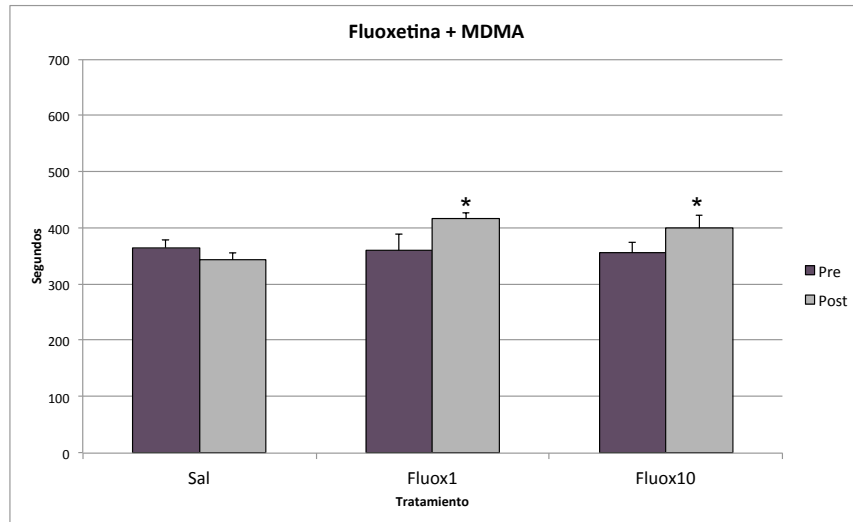


Figura 15: Efectos de la inhibición de la recaptación de 5-HT sobre la adquisición del CPL inducido por 1.25 mg/kg de MDMA. La Fluoxetina fue administrada 30 minutos antes del condicionamiento y el MDMA inmediatamente antes. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris). Los grupos son: Salino + MDMA 1.25 mg/kg (Sal+ M1.25; n= 9), Fluoxetina 1 mg/kg + MDMA 1.25 mg/kg (Fluox 1+M1.25; n= 8) y Fluoxetina 10 mg/kg + MDMA 1.25 mg/kg (Fluox 10+M1.25; n= 8). Diferencias significativas respecto al Pre-C * $p < 0.05$.

El ANOVA con los grupos que recibieron Fluoxetina en combinación con 1.25 mg/kg de MDMA no mostró un efecto significativo de las variables "Días" [$F(1,22)=4.124$; $p=0.055$] o "Fluoxetina" [$F(2,22)=1.408$; $p=0.266$], pero si de la interacción "Días x Fluoxetina" [$F(2,22)=3.760$; $p < 0.05$]. Las comparaciones post-hoc mostraron que los dos grupos que recibieron fluoxetina + MDMA se diferenciaron del grupo que recibió sólo MDMA el día del Post-C ($p < 0.05$) y que los grupos que recibieron Fluoxetina + MDMA mostraron diferencias entre el Pre-C y el Post-C en el tiempo de permanencia en el compartimento asociado al fármaco ($p < 0.05$), indicando la adquisición del CPL.

Estudio 2.

9.2.2.2. Análisis de monoaminas cerebrales.

Los resultados obtenidos pueden observarse en la tabla 4.

		Sal-M1.25	F10-M1.25
Estriado	DA	17960 ± 845	17872 ± 790
	DOPAC	1357 ± 200	1027 ± 139
	HVA	1095 ± 87	1164 ± 73
	DA turnover	.07833 ± .0073	.057 ± .0067
	5-HT	1098 ± 66	1100 ± 69
	5-HIAA	250 ± 16	191 ± 18 *
	5-HT turnover	.23133 ± .0109	.17320 ± .0077 **
C. Frontal	5-HT	782 ± 40	823 ± 54
	5-HIAA	100 ± 7	84 ± 10
	5-HT turnover	.13250 ± .0108	.10280 ± .0101
Hipocampo	5-HT	597 ± 71	535 ± 30 *
	5-HIAA	211 ± 24	148 ± 11
	5-HT turnover	.363 ± .0332	.280 ± .0249

Tabla 4: Concentración de monoaminas en estriado, córtex frontal e hipocampo de animales tratados durante el condicionamiento con Salino + MDMA 1.25 mg/kg (Sal+M1.25), Fluoxetina 10 mg/kg + MDMA 1.25 mg/kg (F10+M1.25). Los datos se presentan como media ± S.E.M. * p<0.05, ** p<0.01.

La fluoxetina produjo una reducción de los niveles de 5-HIAA (p<0.05) y del turnover de 5-HT en el estriado (p<0.001), así como una reducción de los niveles de 5-HT en el hipocampo (p<0.05).

9.3. Efectos de un pretratamiento con fluoxetina sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.

9.3.1. Materiales y métodos.

9.3.1.1. Sujetos.

En la realización de este estudio se emplearon 75 ratones albinos de las mismas características y alojados en las mismas condiciones a las descritas en el experimento anterior. Los procedimientos de manipulación, tratamiento y cuidado de los animales se realizaron como se ha descrito previamente.

9.3.1.2. Aparatos y procedimiento.

Los aparatos y el procedimiento empleados en este estudio fueron los mismos a los descritos en el Estudio 1, a excepción de los pretratamientos que se detallan a continuación.

9.3.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.

Los animales fueron inyectados con MDMA y/o clorhidrato de fluoxetina. Los grupos control recibieron solución salina fisiológica (NaCl 0.9%), que fue empleada igualmente para disolver los fármacos. La procedencia, preparación y administración de los fármacos fueron las mismas anteriormente descritas.

Los animales recibieron un pretratamiento entre los PND 25 y 29, consistente en una administración de Fluoxetina o salino al día, durante 5 días, seguido de 6 días en los que los animales no recibieron tratamiento farmacológico. Posteriormente se comenzó el condicionamiento que se realizó entre los PND 36 y 43, en el que todos los grupos recibieron 1.25 mg/kg de MDMA. Los grupos se diferenciaron en el pretratamiento recibido, conformando los siguientes grupos experimentales:

Estudio 2.

1. Pretratamiento con Salino – Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Sal).
2. Pretratamiento Fluoxetina 1 mg/kg - Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Fluox 1).
3. Pretratamiento Fluoxetina 10 mg/kg - Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Fluox 10).

Posteriormente 2 grupos adicionales (n=15) recibieron un tratamiento farmacológico equivalente al que recibieron los grupos con los que se realizó el CPL, para las determinaciones neuroquímicas. Los grupos en los que se realizaron los análisis fueron:

1. Pretratamiento Salino – Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Sal).
2. Pretratamiento Fluoxetina 10 mg/kg - Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Fluox 10).

9.3.1.4. Análisis estadístico.

Para evaluar el efecto de un pretratamiento con fluoxetina en la adquisición del CPL inducido por 1.25 mg/kg de MDMA, los datos del tiempo pasado por los animales en el compartimento asociado al fármaco fueron analizados con un ANOVA con una variable entre "Pretratamiento" con 3 niveles (Sal, Fluox 1, Fluox 10) y una variable intra "Días", con 2 niveles (Pre-C y Post-C). En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

Para evaluar el efecto del pretratamiento con fluoxetina en los niveles de monoaminas cerebrales, se realizó una prueba t comparando los grupos "Sal-M1.25" y "Fluox 10-M1.25".

9.3.2. Resultados.

9.3.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.

Los resultados obtenidos se pueden ver en la figura 16.

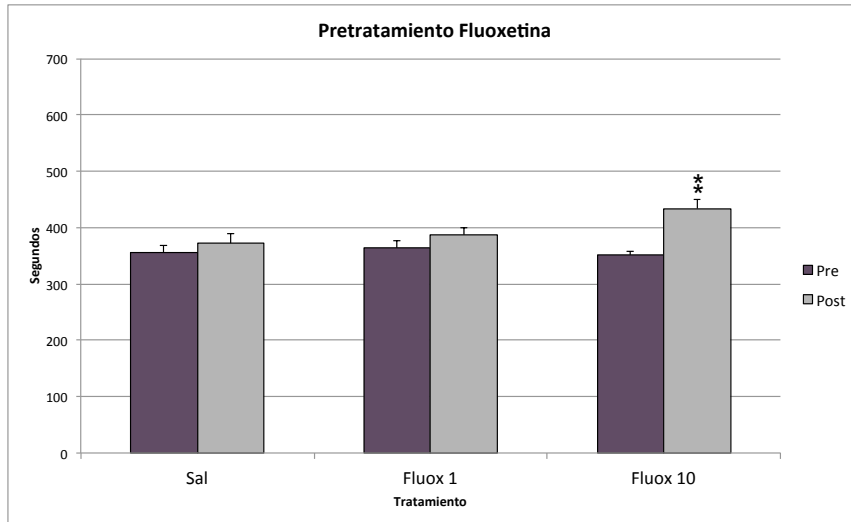


Figura 16: Adquisición del CPL inducido por 1.25 mg/kg de MDMA después de un pretratamiento con un inhibidor de la recaptación de 5-HT (Fluoxetina). Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris). Los grupos son: Pretratamiento con Salino – Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Sal; n=13), pretratamiento con Fluoxetina 1 mg/kg - Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Fluox 1; n= 13), pretratamiento con Fluoxetina 10 mg/kg - Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Fluox 10; n=13).

El ANOVA con los grupos que recibieron un pretratamiento con fluoxetina y posteriormente condicionados con 1.25 mg/kg de MDMA mostró un efecto significativo de la variable "Días" [$F(1,36)=12.267$; $p<0.001$] y de la interacción "Días x Pretratamiento" [$F(2,36)=3.310$; $p<0.05$], pero no de la variable "Pretratamiento" [$F(2,36)=2.642$; $p=0.085$]. Las comparaciones post-hoc mostraron que el grupo que recibió el pretratamiento con 10 mg/kg de Fluoxetina presentó mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado con MDMA en el Post-C en comparación con el grupo que recibió un pretratamiento con salino ($p<0.05$), así como en comparación con los valores que presentaron en el Pre-C ($p<0.001$).

Estudio 2.

9.3.2.2. Análisis de monoaminas cerebrales.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5.

Pretratamiento		Sal-M1.25	F10-M1.25
Estriado	DA	17952 ± 1035	17012 ± 1552
	DOPAC	1438 ± 225	910 ± 115 *
	HVA	1100 ± 106	745 ± 65 **
	DA turnover	.0782 ± .0092	.0535 ± .0041 **
	5-HT	1080 ± 77	938 ± 114
	5-HIAA	247 ± 19	247 ± 19
	5-HT turnover	.2298 ± .0145	.2707 ± .0120 *
C. Frontal	5-HT	769 ± 46	945 ± 51 **
	5-HIAA	99 ± 8	103 ± 10
	5-HT turnover	.1312 ± .0142	.109 ± .009
Hipocampo	5-HT	566 ± 78	604 ± 82
	5-HIAA	196 ± 22	180 ± 6
	5-HT turnover	.359 ± .0404	.3178 ± .0318

Tabla 5: Concentración de monoaminas en el estriado, córtex frontal e hipocampo. Los animales recibieron un pretratamiento con salino (Sal-M1.25) o Fluoxetina (F10-M1.25) y posteriormente fueron condicionados con 1.25 mg/kg de MDMA. Los datos se presentan como media ± S.E.M. * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001.

El pretratamiento con fluoxetina produjo un descenso en los niveles estriatales de DOPAC (p<0.05), HVA (p<0.01) y del turnover de DA (p<0.01), junto con un incremento del turnover de 5-HT estriatal (p<0.05), y de la 5-HT en el córtex frontal (p<0.01).

9.4. Efectos de la fluoxetina sobre la reinstauración del CPL inducido por MDMA.

9.4.1. Materiales y métodos.

9.4.1.1. Sujetos.

En la realización de este estudio se emplearon 105 ratones albinos con las características descritas anteriormente. Los procedimientos de manipulación, tratamiento y cuidado de los animales también se realizaron como se ha descrito previamente.

9.4.1.2. Aparatos y procedimiento.

Los aparatos y el procedimiento empleados en este estudio fueron los mismos a los descritos en el Estudio 1, a excepción de que en este estudio, los animales recibieron la fluoxetina 30 minutos antes del test de reinstauración y/o la MDMA 15 minutos antes del mismo, ya que en este estudio se pretendió evaluar el efecto de la inhibición de la recaptación de 5-HT sobre la reinstauración del CPL inducido por MDMA.

9.4.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.

La procedencia, preparación y administración de los fármacos fueron iguales a las anteriormente descritas. Todos los grupos recibieron 10 mg/kg de MDMA en la fase de condicionamiento, diferenciándose en el tratamiento recibido antes del test de reinstauración, conformando los siguientes grupos experimentales:

1. Salino + Salino (Sal).
2. Salino + MDMA 1.25 mg/kg (M1.25).
3. Salino + MDMA 5 mg/kg (M5).
4. Floxetina 1 mg/kg + Salino (F1).
5. Floxetina 10 mg/kg + Salino (F10).

Estudio 2.

6. Fluoxetina 1 mg/kg + MDMA 1.25 mg/kg (F1+M1.25).
7. Fluoxetina 10 mg/kg + MDMA 1.25 mg/kg (F10+M1.25).

Posteriormente 2 grupos adicionales (n=15) fueron sacrificados 15 días después de terminar el tratamiento farmacológico del condicionamiento con 10 mg/kg de MDMA; diferenciándose en el tratamiento recibido antes del sacrificio. Los grupos que se realizaron para estos análisis fueron:

1. Salino + MDMA 1.25 mg/kg (Sal+M1.25).
2. Fluoxetina 10 mg/kg + MDMA 1.25 mg/kg (F10+M1.25).

9.4.1.4. Análisis estadístico.

Para evaluar el efecto de la fluoxetina sola o en combinación con MDMA en la reinstauración del CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA, los datos del tiempo pasado por los animales en el compartimento asociado al fármaco fueron analizados con un ANOVA con una variable entre "Tratamiento" con 7 niveles (Sal, MDMA1.25, Fluox 1, Fluox 10, Fluox 1+MDMA1.25, Fluox 10+MDMA1.25) y una variable intra "Días", con 4 niveles (Pre-C, Post-C, extinción, reinstauración). En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

Para evaluar el efecto de la inhibición de la recaptación de 5-HT en la reinstauración inducida por 1.25 mg/kg de MDMA en los niveles de monoaminas, se realizó una prueba t comparando los grupos "Sal+M1.25" y "Fluox 10+M1.25".

9.4.2. Resultados.

9.4.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.

Los resultados obtenidos pueden observarse en la figura 17.

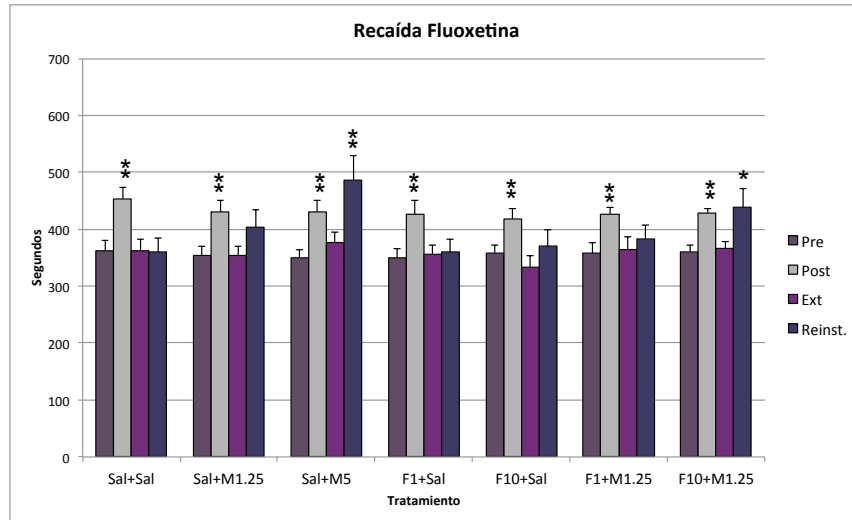


Figura 17: Reinstauración inducida por Salino + Salino (Sal; n=11), Salino + MDMA 1.25 mg/kg (M1.25; n=11), Salino + MDMA 5 mg/kg (M5; n=10), Fluoxetina 1 mg/kg + Salino (F1; n= 11), Fluoxetina 10 mg/kg + Salino (F10; n=10), Fluoxetina 1 mg/kg + MDMA 1.25 mg/kg (F1+M1.25; n=10), Fluoxetina 10 mg/kg + MDMA 1.25 mg/kg (F10+M1.25; n=11). El inhibidor de la recaptación de 5-HT (o la solución salina) fueron administrados 30 minutos antes del test de reinstauración y la MDMA (o solución salina) 15 minutos antes del test. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris), Extinción (fucsia) y Reinstauración (azul). Diferencias significativas respecto al Pre-C ** p<0.01, * p<0.05.

El ANOVA mostró un efecto significativo de la variable "Días" [F(3,6)=36.069; p<0.001] y de la interacción "Días x Tratamiento" [F(3,67)=1.706; p<0.05], pero no de la variable "Tratamiento" [F(6,67)=0.893; p=0.505]. Las comparaciones post-hoc mostraron mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado a la MDMA en el Post-C y en el test de reinstauración, en comparación con el Pre-C (p<0.001), así como mayores tiempos en el compartimento asociado a la MDMA en el test de reinstauración en comparación con los tiempos mostrados en la última

Estudio 2.

extinción ($p < 0.001$). Todos los grupos permanecieron más tiempo en el compartimento asociado al fármaco en el Post-C en comparación con el Pre-C ($p < 0.05$ o $p < 0.01$).

Los grupos M5 y F10+M1.25 mostraron mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado con el fármaco en el test de reinstauración en comparación con los tiempos registrados en el Pre-C (M5, $p < 0.01$; F10+M1.25, $p < 0.05$) y en la última extinción (M5, $p < 0.01$; F10+M1.25, $p < 0.05$), indicando la reinstauración de la preferencia condicionada previamente extinguida.

9.4.2.2. Análisis monoaminas cerebrales.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 6.

Reinst.		Sal+M1.25	F10+M1.25
Estriado	DA	19003 ± 627	20668 ± 532
	DOPAC	1282 ± 125	1238 ± 115
	HVA	1282 ± 74	1330 ± 91
	DA turnover	.0667 ± .0045	.0596 ± .0072
	5-HT	1088 ± 68	1208 ± 106
	5-HIAA	242 ± 16	220 ± 11
	5-HT turnover	.2231 ± .0085	.1854 ± .0112
C. Frontal	5-HT	872 ± 47	994 ± 16 *
	5-HIAA	115 ± 5	85 ± 7 **
	5-HT turnover	.1334 ± .008	.0854 ± .0059 **
Hipocampo	5-HT	609 ± 47	661 ± 55
	5-HIAA	257 ± 26	181 ± 18 *
	5-HT turnover	.4204 ± .022	.2742 ± .0161 **

Tabla 6: Concentración de monoaminas en estriado, córtex frontal e hipocampo de animales tratados antes de la reinstauración con Salino + MDMA 1.25 mg/kg (Sal+M1.25) o Fluoxetina 10 mg/kg + MDMA 1.25 mg/kg (F10+M1.25). Los datos se presentan como media ± S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

La fluoxetina incrementó la 5-HT en el córtex frontal ($p < 0.05$), además, produjo una reducción de los niveles de 5-HIAA en el córtex frontal ($p < 0.01$) e hipocampo ($p < 0.05$) y un descenso en el turnover de 5-HT en ambas regiones ($p < 0.01$).

9.5. Discusión.

Nuestros resultados indican que la inhibición de la recaptación de 5-HT con fluoxetina potencia los efectos reforzantes de la MDMA. En la fase de adquisición del condicionamiento, la administración de fluoxetina en combinación con una dosis inefectiva de MDMA induce CPL. Asimismo, esta dosis subumbral de MDMA es efectiva para inducir CPL sólo en animales que han recibido un pretratamiento con fluoxetina varios días antes del condicionamiento. Del mismo modo, la administración de fluoxetina potencia el efecto de la MDMA sobre la reinstauración del condicionamiento tras la extinción. La combinación de fluoxetina y MDMA produce también algunos efectos neuroquímicos diferentes a la administración de MDMA sólo, especialmente cambios en los niveles de 5-HT y su metabolito.

En el presente estudio hemos comprobado que la fluoxetina no tiene efectos motivacionales. De acuerdo con esto, Hall y cols. (2002) tampoco observaron CPL en ratones WT tratados con 5 mg/kg de fluoxetina, mientras que esta dosis era capaz de inducir CPL en ratones KO para el DAT o para el NET; asimismo encontraron que una dosis mayor (20 mg/kg) tenía efectos aversivos e inducía CPA. Por el contrario, otros autores han observado que los ISRSs y en concreto la fluoxetina pueden inducir CPL (Collu y cols., 1997a, Subhan y cols., 2000a, 2000b). En nuestros animales, las dosis de fluoxetina empleadas no han tenido efecto motivacional por si mismas, aunque cabe la posibilidad de que dosis mayores tuvieran algún efecto. Del mismo modo, la dosis de MDMA empleada (1.25 mg/kg) es una dosis subumbral que por si misma no es capaz de inducir CPL en animales controles tal como hemos observado en estudios previos (Daza-Losada y cols., 2009; Manzanedo y cols., 2010; Ribeiro Do Couto y cols., 2011b; Rodríguez-Arias y cols., 2010). En el presente estudio la administración previa de fluoxetina (1 y 10 mg/kg) (30 minutos antes del condicionamiento) incrementa los efectos reforzantes de la dosis subumbral de MDMA, siendo capaz de inducir CPL. Estos resultados coinciden con los que hemos obtenido en un estudio previo con la administración

Estudio 2.

conjunta de dosis subumbral de MDMA y cannabinoides (Manzanedo y cols., 2010). En comparación a los animales tratados sólo con MDMA, los que reciben la combinación de fluoxetina y MDMA presentan una disminución de los niveles de 5-HIAA y de la tasa de recambio de 5-HT en el estriado y una reducción de los niveles de 5-HT en el hipocampo. Estos cambios pueden ser vistos como una consecuencia del incremento en la cantidad de 5-HT disponible inducida por la inhibición de su recaptación tras la administración repetida de fluoxetina durante los días de condicionamiento. Hay que tener en cuenta que las muestras neuroquímicas corresponden al día del Post-C, 24 horas después de la última administración de fluoxetina y MDMA. Los resultados conductuales obtenidos en el CPL sugieren que un incremento en los niveles de 5-HT durante el condicionamiento puede potenciar los efectos reforzantes de la MDMA.

En el siguiente experimento hemos comprobado cómo un pretratamiento durante 5 días con la dosis alta de fluoxetina (10 mg/kg), 6 días antes de comenzar el condicionamiento también potenció el efecto reforzante de una dosis inefectiva de MDMA, de forma que los animales que fueron pretratados con esta dosis de fluoxetina desarrollaron un CPL tras el condicionamiento con 1.25 mg/kg de MDMA pero no los que fueron pretratados con salino. Estudios previos de nuestro laboratorio también han puesto de manifiesto que el pretratamiento con MDMA (Daza-Losada y cols., 2009), WIN 55212-2 (Rodríguez-Arias y cols., 2010) o con alcohol (Ribeiro Do Couto y cols., 2011b) potencian los efectos reforzantes de la MDMA. Estos resultados indican que si los animales han tenido previamente niveles elevados de 5-HT (inducidos por la inhibición de su recaptación con fluoxetina), presentarán una mayor respuesta a la administración posterior de MDMA. Los resultados neuroquímicos señalan que el pretratamiento con fluoxetina disminuye los niveles estriatales de DOPAC, HVA y de la tasa de recambio de DA, junto con un incremento de la tasa de recambio de 5-HT estriatal y de la 5-HT en el córtex frontal. Nuevamente estos resultados pueden ser vistos como cambios compensatorios dado que la administración repetida de fluoxetina tuvo lugar unas dos semanas antes de que se obtuvieran las muestras (en el día del Post-C).

En el último experimento hemos visto como la administración de fluoxetina (10 mg/kg) también potencia el efecto reinstaurador de la dosis subumbral de MDMA

tras la extinción del condicionamiento. De acuerdo con nuestros estudios previos, hemos observado que la dosis de 5 mg/kg de MDMA es claramente efectiva para inducir la reinstauración del CPL (Daza-Losada y cols., 2007; Daza-Losada y cols., 2009; Ribeiro Do Couto y cols., 2011a), mientras que la dosis de 1.25 mg/kg no es capaz de provocar reinstauración (Daza-Losada y cols., 2011). De mismo modo, hemos observado que la administración de fluoxetina (1 o 10 mg/kg) no induce reinstauración cruzada del CPL inducido por MDMA. El principal resultado observado en este experimento es que la combinación de la dosis alta de fluoxetina y una dosis inefectiva de MDMA, es capaz de provocar la reinstauración del CPL, observándose un resultado similar al inducido por la dosis más alta de MDMA. Este resultado nuevamente indica que el incremento en los niveles de 5-HT inducido por la inhibición de su recaptación con fluoxetina potencia el efecto reinstaurador de la MDMA, apoyando la implicación de la 5-HT en los efectos reforzantes de la MDMA. En comparación a los animales que reciben sólo MDMA, aquellos tratados con MDMA y fluoxetina presentan un incremento de 5-HT en el córtex frontal así como una reducción de los niveles de 5-HIAA en el córtex frontal e hipocampo y un descenso en la tasa de recambio de 5-HT en ambas regiones. Por tanto, este estudio demuestra que, de forma aguda, la administración conjunta de fluoxetina y MDMA produce una mayor liberación de 5-HT en el córtex frontal que la administración de MDMA sola, lo que puede estar relacionado con la potenciación del efecto reforzante de esta droga. Asimismo, la administración conjunta de fluoxetina y MDMA también incrementa, aunque de forma no significativa, los niveles de DA y 5-HT en el estriado y de 5-HT en el hipocampo, lo que también podría contribuir al incremento en los efectos reforzantes de la MDMA.

Diferentes mecanismos podrían estar implicados en el efecto potenciador de la fluoxetina sobre las propiedades reforzantes de la MDMA. Estudios neuroanatómicos y neuroquímicos indican que los cuerpos celulares de las neuronas serotoninérgicas están localizados principalmente en los núcleos medial y dorsal del rafe. Desde estos núcleos, las fibras serotoninérgicas se proyectan al prosencéfalo hasta inervar diferentes áreas corticales u otras estructuras como la sustancia negra o el ATV, así como a sus respectivas regiones terminales como el estriado, el N. Acc, la amígdala o el hipocampo (Van der Kooy y Hattori, 1980; Hervé y cols., 1987; Jacobs y Azmitia,

1992). Se ha observado que la fluoxetina puede influir sobre la actividad del sistema dopaminérgico mesolímbico. Por ejemplo, la fluoxetina incrementa la 5-HT sináptica en diferentes regiones como el estriado (Perry y Fuller, 1992), el N. Acc (Guan, 1988; Guan y McBride, 1989) o el hipocampo (Boothman y cols., 2006). De acuerdo con estos resultados, en el presente estudio hemos observado que todos los grupos tratados con fluoxetina experimentan un incremento de la 5-HT en el córtex frontal, aunque este incremento no alcanza la significación en los animales tratados durante la adquisición. Además, el grupo tratado antes de la reinstauración muestra una tasa de recambio de 5-HT menor, junto con menores niveles de 5-HIAA en el córtex frontal, lo que puede deberse a que, como hemos comentado previamente, se trata del único grupo bajo el efecto agudo de este fármaco, por lo que la inhibición del metabolismo de la 5-HT producido por la fluoxetina se aprecia de forma más clara. Así, conforme pasa el tiempo desde la administración de fluoxetina este efecto va disminuyendo. Los mencionados cambios en la neurotransmisión serotoninérgica pueden afectar a las propiedades reforzantes de las drogas (Rockman y cols., 1980; Smith y cols., 1986; Spyraiki y cols., 1988; Carroll y cols., 1990). De acuerdo con esto, ratas a las que se les había practicado una lesión con 5,7-dihidroxitriptamina en el N. Acc. mostraron una atenuación en el CPL inducido por morfina y no llegaron a mostrar CPL inducido por diazepam, aunque presentaron CPL tras la administración de amfetamina (Spyraiki y cols., 1988). Además, las manipulaciones que incrementan la neurotransmisión serotoninérgica reducen la AA de cocaína y amfetamina (Smith y cols., 1986; Carroll y cols., 1990), y se ha informado que ratones KO para el SERT muestran un incremento en las propiedades reforzantes de la cocaína (Sora y cols., 1998).

Sin embargo, este incremento en la 5-HT no se da de forma generalizada, ya que algunos estudios han demostrado que la fluoxetina puede atenuar la liberación de 5-HT inducida por MDMA (Hekmatpanah y Peroutka, 1990; Gudelsky y Nash, 1996; Mehan y cols., 2002). De acuerdo con esto, en nuestros animales hemos observado un descenso en la 5-HT hipocampal en los animales tratados con 10 mg/kg de Fluoxetina + 1.25 mg/kg de MDMA durante la adquisición, aunque como hemos comentado previamente esto puede representar una alteración compensatoria más que un efecto agudo del tratamiento. Por otra parte, hay que

tener en cuenta que la fluoxetina actúa inhibiendo la recaptación de 5-HT por lo que la 5-HT liberada en respuesta al MDMA permanecerá por más tiempo en la sinapsis. Además, otros mecanismos que no implican al SERT pueden contribuir a una mayor actividad de la 5-HT en la sinapsis, como la interferencia con su metabolismo, inhibiendo la actividad de la MAO, propiedad que comparten la MDMA y la fluoxetina (Leonardi y Azmitia, 1994). De acuerdo con esto, hemos observado como el tratamiento conjunto de Fluoxetina y MDMA durante la adquisición produce una ralentización del metabolismo de la 5-HT en el estriado, reflejado en menores niveles de 5-HIAA junto con una menor tasa de recambio de la 5-HT; aunque en hipocampo y corteza frontal también se aprecia esta ralentización en el metabolismo de la 5-HT, ésta no alcanza la significación. En el caso de los animales pretratados con fluoxetina observamos un incremento de la tasa de recambio de 5-HT en el estriado cuando han transcurrido unas dos semanas desde el pretratamiento con fluoxetina, lo cual podría reflejar una respuesta compensatoria tras un periodo en el que este metabolismo ha permanecido inhibido. Por su parte, en los animales tratados antes del test de reinstauración (que se encuentran bajo el efecto agudo de la fluoxetina) volvemos a observar esta inhibición tanto en el 5-HIAA como en la tasa de recambio de 5-HT, alcanzando la significación en hipocampo y córtex frontal.

Se ha informado de que los antidepresivos pueden incrementar la neurotransmisión en el sistema dopaminérgico mesolímbico (Maj y cols., 1987; Plaznik y Kostowski, 1987). Además hay que tener en cuenta que la fluoxetina es el fármaco menos selectivo dentro del grupo de los ISRSs, y puede por si misma incrementar las concentraciones de otras catecolaminas. En su grupo es el segundo en potencia inhibiendo la recaptación de NA por detrás de la paroxetina y también tiene un moderado efecto como inhibidor de la recaptación de DA (Stanford, 1996). Así, la administración sistémica de fluoxetina incrementa los niveles de NA y/o DA en dializados del N. Paraventricular del hipotálamo (Paez y Leibowitz, 1993), la CPF (Tanda y cols., 1994; Pozzi y cols., 1999) y el ATV (Chen y Reith., 1994), aunque no en el estriado (Perry y Fuller, 1992) o el N. Acc (Tanda y cols., 1994). Estas alteraciones en las concentraciones de monoaminas pueden contribuir al incremento en los efectos reforzantes de la MDMA. En nuestros resultados, aunque no hemos observado un incremento en los niveles de DA en el estriado, hemos podido

Estudio 2.

observar una ralentización en el metabolismo dopaminérgico en el estriado en los animales que recibieron un pretratamiento con 10 mg/kg de Fluoxetina, que presentan una tasa de recambio de DA menor, junto con menores niveles de ambos metabolitos.

Además, se ha informado que un tratamiento crónico con antidepresivos provoca una mayor sensibilidad en los receptores dopaminérgicos en el sistema dopaminérgico mesolímbico (Durlach-Misteli y Van Ree, 1992; Serra y cols., 1992; Collu y cols., 1997). Así, la capacidad de la fluoxetina para incrementar las propiedades reforzantes de la MDMA puede estar relacionada con sus efectos sobre los receptores dopaminérgicos, de forma que aún mostrando niveles similares de DA estriatal, ésta pudiera resultar más efectiva en su acción sobre estos receptores.

Por último, se ha observado que los antidepresivos incrementan tanto los niveles de endorfinas y encefalinas en el N. Acc y estriado (De Felipe y cols., 1985; Zangen y cols., 1999) como el ARNm que codifica la proencefalina (Dziedzicka-Wasylewska y Rogoz, 1995), por lo que parece que la fluoxetina podría incrementar el tono encefalinérgico en áreas cerebrales implicadas en el refuerzo (Subhan y cols., 2000b).

En suma, diferentes mecanismos, como alteraciones en los niveles de 5-HT o DA, la inhibición del metabolismo de estos neurotransmisores o la sensibilización de los receptores dopaminérgicos y el incremento en el tono encefalinérgico, pueden contribuir a explicar la mayor sensibilidad de los animales tratados con fluoxetina al efecto reforzante de la MDMA.

Estudio 3:

Efectos del bloqueo del sistema
dopaminérgico sobre la adquisición,
la expresión y la reinstauración del
CPL inducido por MDMA



10.1. Introducción.

La 3,4-metilendioximetanfetamina (MDMA), conocida como éxtasis, es un derivado anfetamínico con propiedades eufóricas y entactógenas (Nichols, 1986). El uso de MDMA se ha incrementado en los últimos años, especialmente entre los adolescentes y los adultos jóvenes, habiendo cambiado de forma considerable el patrón de consumo (Pope y cols., 2001). Previamente, la subcultura de los consumidores de MDMA se limitaba bastante al contexto de fiestas y discotecas. Más recientemente el consumo se ha extendido fuera de esta subcultura y ahora muchas personas consumen MDMA con frecuencia, habitualmente ingiriendo grandes cantidades de pastillas por lo menos en una ocasión y prolongando su consumo durante al menos 48 horas en los 6 meses previos al estudio (George y cols., 2010). Algunos consumidores cumplen los criterios de abuso o dependencia de sustancias, evidenciándose igualmente síndrome de abstinencia con la retirada del fármaco (Leung y Cottler, 2008).

Las drogas con potencial de abuso incrementan los niveles de DA sináptica en el cerebro (Di Chiara e Imperato, 1988) y existen evidencias de que la MDMA incrementa la actividad dopaminérgica en la vía dopaminérgica mesolímbica (Robledo y cols., 2004b). La MDMA tiene un efecto agonista monoaminérgico indirecto (Green y cols., 2003; Escobedo y cols., 2005) que induce la liberación presináptica de DA y 5-HT (Schmidt y cols., 1987; Yamamoto y Spanos, 1988; Hiramatsu y Cho, 1990; Gough y cols., 1991; Marona-Lewicka y cols., 1996; Koch y Galloway, 1997; Kankaanpaa y cols., 1998; Robledo y cols., 2004b; Cadoni y cols., 2005) e incrementa la DA y 5-HT extracelular en el N. Acc. (White y cols., 1994; Kankaanpaa y cols., 1998; O'Shea y cols., 2005) incrementando preferentemente la transmisión dopaminérgica en la corteza en comparación con el núcleo del N. Acc. (Cadoni y cols., 2005).

La MDMA actúa como un reforzador tanto en el modelo de CPL (Daza-Losada y cols., 2007, 2009, 2010; Rodríguez-Arias y cols., 2010) como en el de AA (Schenk y cols., 2007; Trigo y cols., 2006, 2007; Touriño y cols., 2008). La administración repetida de MDMA induce sensibilización a los efectos conductuales de posteriores administraciones de MDMA (Kalivas y cols., 1998; Ramos y cols., 2004; Colussi-Mas

y Schenk, 2008) y sensibilización cruzada a los efectos conductuales de la cocaína (Kalivas y cols., 1998) y la anfetamina (Callaway y Geyer, 1992). Cuando se administra a ratones durante la adolescencia, la MDMA incrementa la sensibilidad a las propiedades recompensantes de esta (Daza-Losada y cols., 2009; Ribeiro Do Couto y cols., 2011a, 2011b) y otras drogas, como la morfina (Daza-Losada y cols., 2008b) y la cocaína (Aberg y cols., 2007) en el periodo adulto. Por otro lado, la administración de una dosis priming de MDMA puede reinstaurar la AA (Schenk y cols., 2008) y el CPL (Daza-Losada y cols., 2007) inducidos por MDMA previamente extinguidos. La AA de MDMA también puede ser reinstaurada mediante claves ambientales asociadas a la MDMA (Ball y cols., 2007).

Se ha demostrado la implicación de mecanismos dopaminérgicos en los efectos subjetivos positivos de la MDMA. El haloperidol, antagonista dopaminérgico D₁/D₂ atenúa los efectos subjetivos positivos y la elevación del estado de ánimo, aunque no tiene efecto en otros cambios subjetivos producidos por la droga o en sus efectos cardiovasculares (Liechti y Vollenweider, 2000). Apoyando el papel de la DA en los efectos de la MDMA, varios estudios han mostrado que el bloqueo de los receptores D₁ y D₂ atenúa de forma significativa la actividad locomotora inducida por la MDMA en ratas (Kehne y cols., 1996; Ball y cols., 2003; Benturquia y cols., 2008). Además, los antagonistas selectivos D₁ y D₂ reducen el incremento en la expresión de genes de expresión temprana en el estriado de ratas producido por la administración de MDMA (Shirayama y cols., 2000), aunque otro trabajo señala la existencia de un efecto parcial con el antagonista D₁ SCH 23390 (Benturquia y cols., 2008). Existen pocos estudios sobre el papel de la DA en el efecto reforzante de la MDMA, y la mayoría de ellos emplean el modelo de AA. Un pretratamiento con SCH 23390 produce un desplazamiento a la derecha en la curva dosis-respuesta de la AA de MDMA (Daniela y cols., 2004) y el antagonista D₂ eticlopride produce un incremento en la tasa de respuesta para obtener MDMA (Brennan y cols., 2009). Un estudio reciente también ha demostrado la implicación de mecanismos dopaminérgicos en la búsqueda de la droga tras la extinción de la AA de MDMA (Schenk y cols., 2011). Sólo un estudio previo se ha centrado en el papel de la DA en la adquisición del CPL inducido por MDMA en ratas, mostrando que la administración de un inhibidor de la liberación de DA, el CGS 10746B, la bloquea (Bilsky y cols., 1998).

Los pocos estudios previos que han evaluado el papel de la neurotransmisión DA en los efectos recompensantes de la MDMA han sido realizados en animales adultos, aunque los estudios epidemiológicos muestran que los adolescentes son los más expuestos a esta droga (ESTUDES, 2010). La adolescencia es un periodo del desarrollo altamente vulnerable a la exposición a las drogas (Schneider, 2008). El presente estudio es el primero en emplear el paradigma de CPL para evaluar el papel de la DA y sus receptores en las propiedades recompensantes de la MDMA en ratones adolescentes. Con esta finalidad, hemos empleado tres antagonistas dopaminérgicos: SCH 23390 (con acción preferentemente en los receptores D₁), Haloperidol (antagonista D₁ y D₂), Raclopride (con acción preferentemente en los receptores D₂) y el inhibidor de la liberación de DA, CGS 10746B. Dado que los efectos neurotóxicos de la MDMA en ratones se manifiestan como una pérdida prolongada de DA, pero no de 5-HT, en el estriado (Colado y cols., 2004; Escobedo y cols., 2005; Daza-Losada y cols., 2008), también estudiamos las concentraciones cerebrales de monoaminas, y del DAT y el SERT, lo que nos permite la comparación entre los datos conductuales y neuroquímicos.

10.2. Efectos del bloqueo del sistema dopaminérgico sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.

10.2.1. Materiales y métodos.

10.2.1.1. Sujetos.

En la realización de este estudio se emplearon 375 ratones albinos machos de la cepa OF1 adquiridos comercialmente en los laboratorios Charles River (Barcelona, España). Los animales tenían 21 días de edad a su llegada a nuestro laboratorio y fueron alojados, manipulados y tratados como se ha descrito previamente.

Estudio 3.

10.2.1.2. Aparatos y procedimiento.

Los aparatos y procedimientos empleados en este estudio fueron los mismos a los descritos en el Estudio 1.

10.2.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.

Los animales recibieron 10 mg/kg de MDMA, 3 o 10 mg/kg de CGS 10746B (Novartis Pharmaceuticals Corporation, Summit, NJ, USA), 0.125 o 0.250 mg/kg de SCH 23390 (Research Biochemical International, Natick, USA), 0.3 o 0.6 mg/kg de Raclopride (Astra Laboratory, Sodertalje, Suecia), o 0.1 o 0.2 mg/kg de Haloperidol (Laboratorios Sintex Latino S.A, Madrid, España). Los grupos control recibieron solución salina fisiológica (NaCl 0.9%), que fue empleada igualmente para disolver los fármacos.

Los animales recibieron los fármacos durante la fase de condicionamiento, 30 minutos antes en el caso de los antagonistas e inmediatamente antes del condicionamiento en el caso de la MDMA. Los grupos experimentales fueron los siguientes:

1. Salino (Sal).
2. CGS 10746B 3 mg/kg (CGS 3).
3. CGS 10746B 10 mg/kg (CGS 10).
4. SCH 23390 0.125 mg/kg (SCH 0.125).
5. SCH 23390 0.250 mg/kg (SCH 0.250).
6. Raclopride 0.3 mg/kg (Racl 0.3).
7. Raclopride 0.6 mg/kg (Racl 0.6).
8. Haloperidol 0.1 mg/kg (Hal 0.1).
9. Haloperidol 0.2 mg/kg (Hal 0.2).
10. Salino – MDMA 10 (Sal+M10).
11. CGS 10746B 3 mg/kg - MDMA 10 mg/kg (CGS3+M10).
12. CGS 10746B 10 mg/kg - MDMA 10 mg/kg (CGS10+M10).
13. SCH 23390 0.125 mg/kg – MDMA 10 mg/kg (SCH0.125+M10).

14. SCH 23390 0.250 mg/kg– MDMA 10 mg/kg (SCH0.250+M10).
15. Raclopride 0.3 mg/kg– MDMA 10 mg/kg (Racl0.3+M10).
16. Raclopride 0.6 mg/kg – MDMA 10 mg/kg (Racl0.6+M10).
17. Haloperidol 0.1 mg/kg – MDMA 10 mg/kg (Hal0.1+M10).
18. Haloperidol 0.2 mg/kg – MDMA 10 mg/kg (Hal0.2+M10).

Posteriormente 5 grupos adicionales (n=15) recibieron un tratamiento farmacológico equivalente al que recibieron los grupos con los que se realizó el CPL, para realizar el análisis de las monoaminas cerebrales y la determinación de los transportadores de 5-HT y DA. Los grupos que se realizaron para estos análisis fueron:

1. Salino + Salino.
2. Salino + MDMA 10 mg/kg.
3. CGS 10746B 10 mg/kg + MDMA 10 mg/kg.
4. Haloperidol 0.2 mg/kg + MDMA 10 mg/kg.
5. SCH 23390 0.125 mg/kg + MDMA 10 mg/kg.
6. SCH 23390 0.250 mg/kg + MDMA 10 mg/kg.
7. Raclopride 0.6 mg/kg + MDMA 10 mg/kg.

24 horas después de finalizar el tratamiento, en el momento correspondiente al Post-C, los animales fueron sacrificados mediante fractura cervical, se extrajo rápidamente el cerebro y se diseccionó el tejido de interés según el método descrito en Heffner y cols. (1980), se pesaron las muestras y se congelaron a -80°C hasta su uso.

10.2.1.4. Análisis estadístico.

Para evaluar los efectos de los antagonistas dopaminérgicos sobre la adquisición del CPL, los datos del tiempo pasado por los animales en el compartimento asociado al fármaco fueron analizados con un ANOVA para cada uno de los antagonistas empleados, con dos variables entre: “Dosis de MDMA” con dos niveles (0 y 10 mg/kg), y “Dosis de antagonista” con tres niveles en cada caso (salino, dosis baja, dosis alta) y una variable intra “Días”, con dos niveles (Pre-C y Post-C). En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

Estudio 3.

Cada monoamina se analizó empleando un ANOVA con una variable entre sujetos "Tratamiento" con 7 niveles (Sal, MDMA 10, Hal 0.2+M10, SCH 0.125+M10, SCH 0.250 + M10, Racl 0.6+M10, CGS10+M10). En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

Las diferencias en la expresión del DAT y el SERT en el estriado se analizaron con ANOVAs similares a los empleados en el análisis de las monoaminas cerebrales.

10.2.2. Resultados.

10.2.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.

Los resultados obtenidos pueden observarse en las figuras 18 y 19.

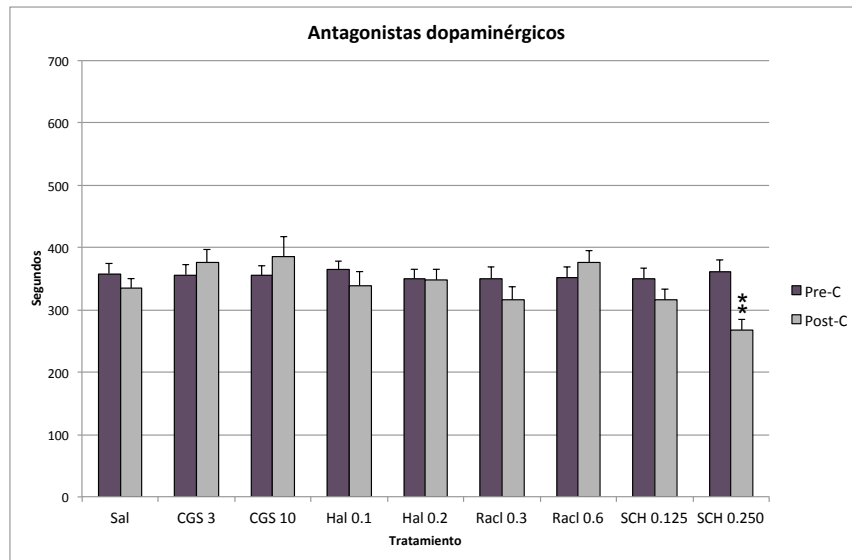


Figura 18: Adquisición del CPL con antagonistas dopaminérgicos (SCH, Raclopride y Haloperidol) y con un inhibidor de la liberación de DA (CGS). El fármaco se administró 30 minutos antes del condicionamiento. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris). Los grupos son: Salino (Sal, n=8), CGS 10746B 3 mg/kg (CGS3, n=10), CGS 10746B 10 mg/kg (CGS10, n=10), Haloperidol 0.1 mg/kg (Hal0.1, n=10), Haloperidol 0.2 mg/kg (Hal0.2, n=10), Raclopride 0.3 mg/kg (Racl0.3, n=9), Raclopride 0.6 mg/kg (Racl0.6, n=9), SCH 23390 0.125 mg/kg (SCH0.125, n=9), SCH 23390 0.250 mg/kg (SCH0.250, n=9). ** $p < 0.01$

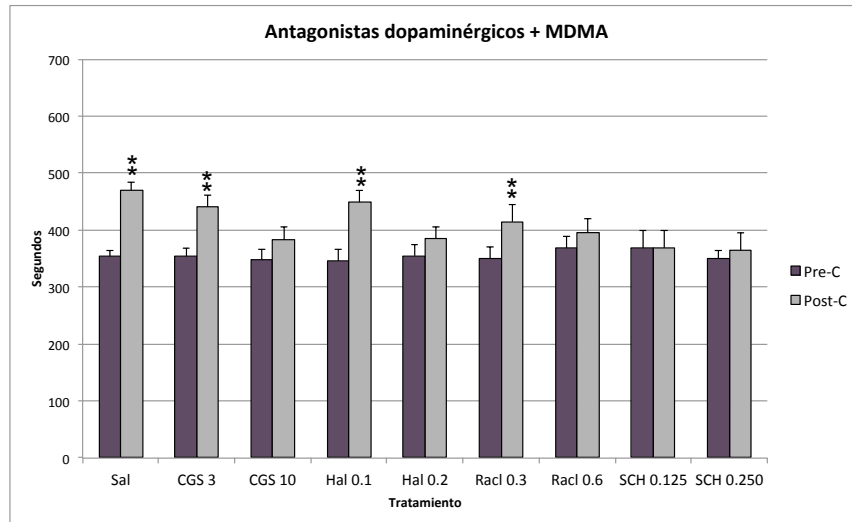


Figura 19: Adquisición del CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA junto con antagonistas dopaminérgicos (SCH, Raclopride y Haloperidol) o con un inhibidor de la liberación de DA (CGS 10746B). El fármaco se administró 30 minutos antes del condicionamiento y el MDMA inmediatamente antes. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris). Los grupos son: Salino + MDMA 10 (Sal, n=10), CGS 10746B 3 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (CGS3, n=9), CGS 10746B 10 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (CGS10, n=10), Haloperidol 0.1 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (Hal0.1, n=10), Haloperidol 0.2 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (Hal0.2, n=10), Raclopride 0.3 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (Rac10.3, n=10), Raclopride 0.6 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (Rac10.6, n=11), SCH 23390 0.125 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (SCH0.125, n=10), SCH 23390 0.250 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (SCH0.250, n=10). ** p<0.01

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron CGS 10746B reveló un efecto significativo de la variable Días [$F(1,51)=27.818$; $p<0.001$], ya que el tiempo pasado en el compartimento asociado al fármaco fue mayor el día del Post-C. La interacción “Dosis de MDMA x Días” fue significativa [$F(1,51)=17.484$; $p<0.001$]. La interacción “Días x Dosis de MDMA x Dosis de CGS” también fue significativa [$F(2,51)=5.724$; $p<0.01$]. No se observaron alteraciones en la preferencia cuando se administró CGS 10746B junto con salino. Las comparaciones post-hoc indicaron que los animales de los grupos MDMA 10 mg/kg ($p<0.001$), CGS 3 mg/kg + MDMA 10 mg/kg ($p<0.001$) pasaron más tiempo en el compartimento asociado con el fármaco durante el Post-C.

Estudio 3.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron haloperidol reveló un efecto significativo de la variable Días [$F(1,49)=13.250$; $p<0.01$], ya que el tiempo pasado en el compartimento asociado al fármaco fue mayor el día del Post-C. La interacción "Dosis de MDMA x Días" fue significativa [$F(1,49)=32.150$; $p<0.001$]. La interacción "Días x Dosis de MDMA x Dosis de haloperidol" también fue significativa [$F(2,49)=3.598$; $p<0.05$]. No se observaron alteraciones en la preferencia cuando el se administró haloperidol junto con salino. Las comparaciones post-hoc indicaron que los animales de los grupos MDMA 10 mg/kg ($p<0.001$), MDMA 10 mg/kg + Haloperidol 0.1 mg/kg ($p<0.001$) pasaron más tiempo en el compartimento asociado con el fármaco durante el Post-C.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron raclopride reveló un efecto significativo de la variable Días [$F(1,50)=8.627$; $p<0.01$], ya que el tiempo pasado en el compartimento asociado al fármaco fue mayor el día del Post-C. La interacción "Dosis de MDMA x Días" fue significativa [$F(1,50)=16.623$; $p<0.001$]. La interacción "Días x Dosis de MDMA x Dosis de raclopride" también fue significativa [$F(2,50)=4.254$; $p<0.05$]. No se observaron alteraciones en la preferencia cuando se administró raclopride junto con salino. Las comparaciones post-hoc indicaron que los animales de los grupos MDMA 10 mg/kg ($p<0.001$), MDMA 10 mg/kg + Raclopride 0.3 mg/kg ($p<0.05$) pasaron más tiempo en el compartimento asociado con el fármaco durante el Post-C.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron SCH 23390 indicó que la variable Días no tuvo un efecto significativo [$F(1,45)=0.159$; $p=0.692$]. Las interacciones "Dosis de MDMA x Días" [$F(1,45)=29.945$; $p<0.001$], "Días x Dosis de SCH 23390" [$F(2,45)=9.408$; $p<0.001$] y "Días x Dosis de MDMA x Dosis de SCH" [$F(2,45)=3.294$; $p<0.05$] fueron significativas. Las comparaciones post-hoc indicaron que la dosis de 0.250 mg/kg de SCH produjo un condicionamiento de aversión de lugar cuando se administró con salino ($p<0.001$). Además, indicaron que el grupo MDMA 10 mg/kg ($p<0.001$) pasó más tiempo en el compartimento asociado con el fármaco durante el Post-C.

10.2.2.2. Análisis de monoaminas cerebrales.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 7.

El ANOVA realizado para comparar los niveles de DA estriatal revelaron un efecto del Tratamiento [F(6,47)=7.120; $p < 0.001$]. Los animales condicionados con MDMA y 0.2 mg/kg de Haloperidol o 0.125 mg/kg de SCH presentaron mayores niveles de DA en comparación con los grupos salino y MDMA ($p < 0.001$ en todos los casos).

Para la concentración estriatal de DOPAC, el ANOVA reveló un efecto del tratamiento [F(6,47)=16.295; $p < 0.001$]. Los grupos condicionados con salino o MDMA presentaron mayores niveles de este metabolito en comparación con los demás grupos ($p < 0.01$ para M10+CGS10 y $p < 0.001$ para el resto de las comparaciones). Además, el grupo M10+Rac0.6 mostró menores niveles de DOPAC en comparación con los grupos M10+CGS10 y M10+SCH0.125 ($p < 0.02$ y $p < 0.05$ respectivamente).

Para la concentración estriatal de HVA, el ANOVA reveló un efecto del tratamiento [F(7,48)=7.584; $p < 0.001$]. El nivel de este metabolito fue menor en los grupos Hal0.2+ M10, SCH0.250+M10 y Rac0.6+M10 en comparación con los animales tratados con salino ($p < 0.001$). Además, el HVA fue menor en el grupo SCH0.250+M10 en comparación con SCH0.125+M10 y CGS10+M10 ($p < 0.05$).

La concentración estriatal de 5-HT no presentó diferencias entre los grupos, pero para la concentración estriatal de 5-HIAA, el ANOVA reveló un efecto del tratamiento [F(6,47)=8.075; $p < 0.001$], con menores concentraciones de este metabolito en todos los grupos en comparación con el grupo tratado con salino ($p < 0.01$ con respecto al grupo MDMA10 y $p < 0.001$ para el resto de comparaciones).

Las concentraciones de 5-HT en la corteza frontal no revelaron diferencias entre los grupos, pero el ANOVA de las concentraciones de 5-HIAA reveló un efecto del tratamiento [F(6,47)=7.550; $p < 0.001$] detectándose menores concentraciones de este metabolito en todos los grupos en comparación con el grupo control ($p < 0.01$ con respecto a M10 y $p < 0.001$ para el resto de las comparaciones).

	Sal+Sal	Sal+M10	CGS10+M10	Hal0.2+M10	SCH0.125+M10	SCH0.250+M10	Rac10.6+M10
Estríado	DA	12351 ± 378	12616 ± 629	15413 ± 640	16482 ± 1043**	16810 ± 717**	14859 ± 574
	DOPAC	2070 ± 154	2049 ± 198	1342 ± 84*	966 ± 108**	1299 ± 151**	832 ± 65**
	HVA	1475 ± 85	1137 ± 48	1199 ± 96	830 ± 100**	1206 ± 102	812 ± 55**
	5-HT	759 ± 31	758 ± 72	789 ± 37	846 ± 42	1020 ± 70	976 ± 81
	5-HIAA	444 ± 37	311 ± 32*	242 ± 32**	272 ± 25**	247 ± 30**	236 ± 25**
C. Frontal	5-HT	771 ± 40	797 ± 42	625 ± 42	705 ± 63	640 ± 83	750 ± 44
	5-HIAA	140 ± 9	149 ± 12	144 ± 14	122 ± 11	111 ± 17	112 ± 7
Hipocampo	5-HT	397 ± 28	420 ± 22	398 ± 20	542 ± 54	467 ± 22	537 ± 48
	5-HIAA	357 ± 24	288 ± 21	201 ± 13**	268 ± 28	248 ± 17*	171 ± 12**

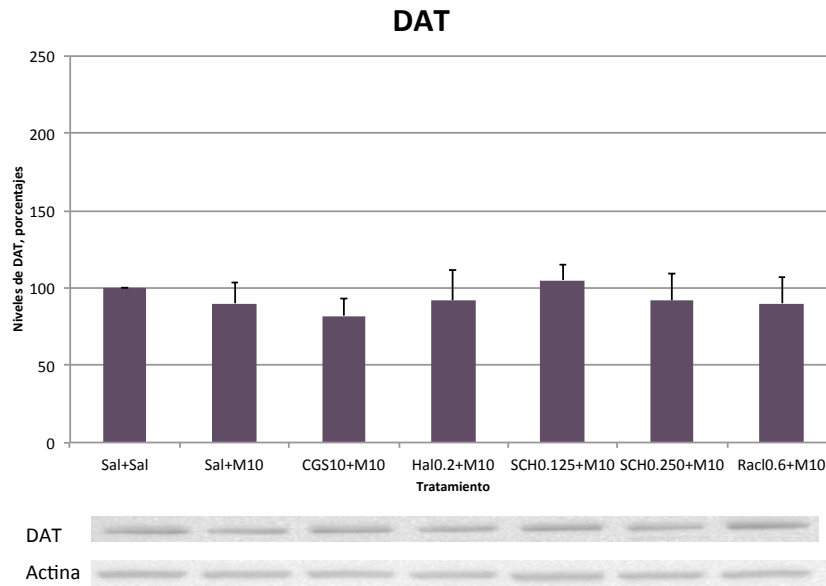
Tabla 7: Concentración de monoaminas en estriado, córtex frontal e hipocampo de animales tratados durante el condicionamiento con Salino + Salino (Sal+Sal), Salino + MDMA 10 mg/kg (Sal+M10), CGS 10746B 10 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (CGS10+M10), Haloperidol 0.2 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (Hal 0.2+M10), SCH 23390 0.125 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (SCH 0.125+M10), SCH 23390 0.250 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (SCH 0.250+M10) y Raciopride 0.6 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (Rac1 0.6+M10). Los datos se presentan como media ±S.E.M. Diferencias con respecto al grupo control *p<0.01, ** p<0.001.

Las concentraciones de 5-HT en el córtex frontal o en el hipocampo no difirieron entre los grupos. Sin embargo, el ANOVA de las concentraciones de 5-HIAA en el córtex reveló un efecto del Tratamiento [F(6,47)=3.043; p<0.01], con una menor concentración en el grupo Rac 0.6+M10 en comparación con el grupo M10 (p<0.05).

El ANOVA de los niveles de 5-HIAA en el hipocampo también reveló un efecto del Tratamiento [F(6,47)=7.845; p<0.001], con menores concentraciones en los grupos SCH0.125+M10 (p>0.01), SCH0.250+M10 (p>0.001), Rac0.6+M10 (p>0.01) y CGS10+M10 (p>0.001) en comparación con el grupo salino. El grupo SCH0.250+M10 también presentó menores concentraciones en comparación con el grupo Sal+M10 (p>0.01).

10.2.2.3. Determinación de los transportadores de dopamina y serotonina.

Los resultados se muestran en las figuras 20 y 21.



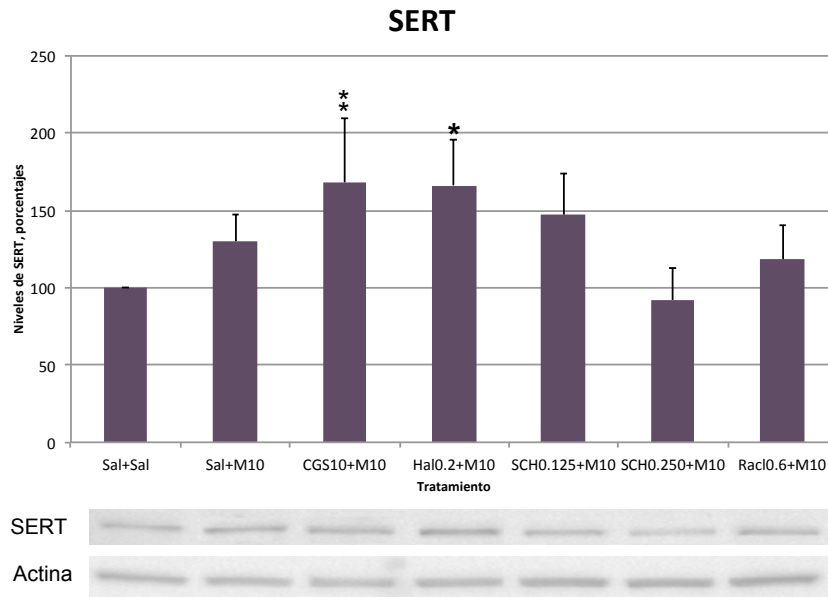


Figura 20 y 21: Concentraciones de DAT y SERT en el estriado. Los animales fueron tratados durante la fase de condicionamiento del CPL con Salino + Salino (Sal+Sal), Salino + MDMA 10 mg/kg (Sal+M10), CGS 10746B 10 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (CGS10+M10), Haloperidol 0.2 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (Hal 0.2+M10), SCH 23390 0.125 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (SCH 0.125+M10), y SCH 23390 0.250 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (SCH 0.250+M10), Raclopride 0.6 mg/kg + MDMA 10 mg/kg (Rac1 0.6+M10), Los datos se presentan como media \pm S.E.M. Diferencias con respecto al grupo control. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

El ANOVA reveló que el condicionamiento con 10 mg/kg de MDMA no afectó a las concentraciones de DAT o SERT en el estriado. Sin embargo, el ANOVA reveló un efecto del CGS [$F(2,23)=3.338$; $p < 0.05$] y del haloperidol [$F(2,23)=5.390$; $p < 0.01$], en la concentración de SERT, observándose mayores niveles en los grupos CGS10+M10 ($p > 0.01$) y Hal0.2+M10 ($p > 0.05$) con respecto al grupo salino. No se observaron diferencias entre los grupos en las concentraciones de actina, confirmando la ausencia de diferencias en la carga de proteínas en el gel.

10.3. Efectos del bloqueo del sistema dopaminérgico sobre la expresión del CPL inducido por MDMA.

10.3.1. Materiales y métodos.

10.3.1.1. Sujetos.

En la realización de este estudio se emplearon 151 ratones albinos macho de la cepa OF1 adquiridos comercialmente en los laboratorios Charles River (Barcelona, España). Los animales tenían 21 días de edad a su llegada a nuestro laboratorio y fueron alojados en las mismas condiciones descritas en el experimento anterior. Los procedimientos de manipulación, tratamiento y cuidado de los animales también se realizaron como se ha descrito previamente.

10.3.1.2. Aparatos y procedimiento.

Los aparatos y el procedimiento empleados en este experimento fueron los mismos a los descritos en el Estudio 1, a excepción de que en este, los animales recibieron una administración del fármaco adecuado a cada grupo 30 minutos antes del test de preferencia (o momento del sacrificio en el caso de los animales usados para las determinaciones neuroquímicas), ya que en este estudio se pretendió evaluar el efecto de los mismos en la expresión del CPL previamente inducido por la MDMA.

10.3.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.

Los animales fueron inyectados con 10 mg/kg de MDMA, CGS 10746B, SCH 23390, Raclopride o Haloperidol. La procedencia, dosis y preparación de los fármacos se realizó igual que en el primer experimento. Los grupos control recibieron solución salina fisiológica (NaCl 0.9%), la cual fue empleada igualmente para disolver los fármacos.

Estudio 3.

Todos los grupos recibieron 10 mg/kg de MDMA en la fase de condicionamiento, diferenciándose en el tratamiento recibido 30 minutos antes del test de preferencia, conformando los siguientes grupos experimentales:

1. Salino (Sal).
2. CGS 10746B 3 mg/kg (CGS3).
3. CGS 10746B 10 mg/kg (CGS10).
4. SCH 23390 0.125 mg/kg (SCH0.125).
5. SCH 23390 0.250 mg/kg (SCH0.250).
6. Raclopride 0.3 mg/kg (Racl0.3).
7. Raclopride 0.6 mg/kg (Racl0.6)
8. Haloperidol 0.1 mg/kg (Hal0.1).
9. Haloperidol 0.2 mg/kg (Hal0.2).

Posteriormente 4 grupos adicionales (n=15) recibieron un tratamiento farmacológico equivalente al que recibieron los grupos con los que se realizó el CPL, para realizar las determinaciones neuroquímicas. Los grupos que se realizaron para estos análisis fueron:

1. Salino (Sal).
2. MDMA 10 mg/kg (M10)
3. MDMA 10 mg/kg – Expr. Haloperidol 0.1 (Hal0.1)
4. MDMA 10 mg/kg – Expr. Haloperidol 0.2 (Hal0.2)

10.3.1.4. Análisis estadístico.

Para evaluar la expresión del CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA, los datos del tiempo pasado por los animales en el compartimento asociado al fármaco fueron analizados con un ANOVA para cada uno de los antagonistas empleados con una variable entre "Dosis de antagonista" con tres niveles en cada caso (Salino, dosis baja, dosis alta) y una variable intra "Días", con dos niveles (Pre-C y Post-C). En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

Cada monoamina se analizó empleando un ANOVA con una variable entre sujetos "Tratamiento" con 4 niveles (Sal, M10, Hal0.1, Hal0.2). Para analizar las diferencias en la expresión del DAT y el SERT en el estriado se analizaron ANOVAs similares. En las comparaciones post-hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

10.3.2. Resultados.

10.3.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.

Los resultados obtenidos pueden observarse en la figura 22.

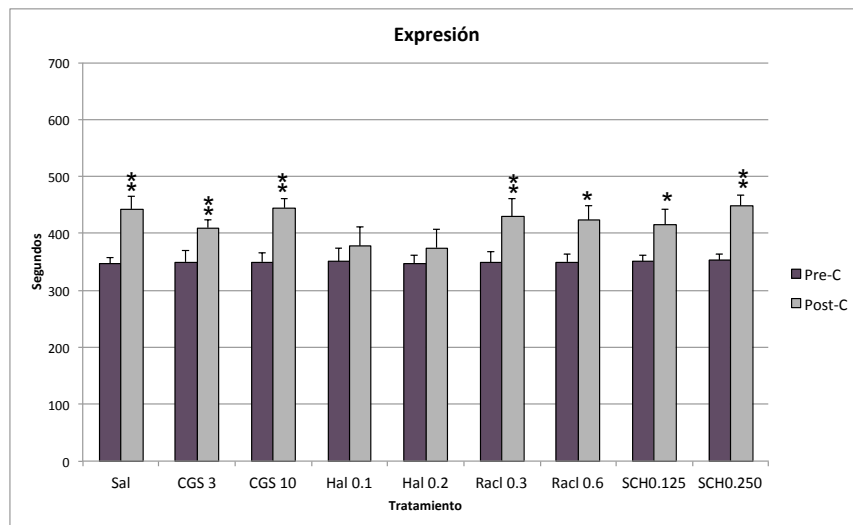


Figura 22: Expresión del CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA tras la administración de antagonistas dopaminérgicos (SCH, Raclopride y Haloperidol) o de un inhibidor de la liberación de DA (CGS10746B). El fármaco se administró 30 minutos antes del test Post-C. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado) y Post-C (gris). Los grupos son: Salino (Sal, n=10), CGS 10746B 3 mg/kg (CGS3, n=9), CGS 10746B 10 mg/kg (CGS10, n=10), Haloperidol 0.1 mg/kg (Hal0.1, n=10), Haloperidol 0.2 mg/kg (Hal0.2, n=10), Raclopride 0.3 mg/kg (Racl0.3, n=10), Raclopride 0.6 mg/kg (Racl0.6, n=11), SCH 23390 0.125 mg/kg (SCH0.125, n=10), SCH 23390 0.250 mg/kg (SCH0.250, n=10).

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron CGS 10746B indicó un efecto significativo de la variable Días [$F(1,27)=57.198$; $p<0.001$], ya que el tiempo pasado

Estudio 3.

en el compartimento asociado al fármaco fue mayor el día del Post-C. La interacción "Dosis x Días" no fue significativa [F(2,27)=1.101; p=0.347].

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron haloperidol indicó un efecto significativo de la variable Días [F(1,24)=9.079; p<0.01] y de la interacción "Dosis x Días" [F(2,24)=4.312; p<0.05]. Las comparaciones post-hoc indicaron que los animales de los grupos que recibieron haloperidol no mostraron una preferencia condicionada por el compartimento asociado a MDMA, por lo que el haloperidol bloqueó la expresión del CPL.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron raclopride indicó un efecto significativo de la variable Días [F(1,27)=29.906; p<0.001], ya que el tiempo pasado en el compartimento asociado al fármaco fue mayor el día del Post-C. La interacción "Dosis x Días" no fue significativa [F(1,27)=0.223; p=0.801].

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron SCH 23390 indicó un efecto significativo de la variable Días [F(1,27)=36.916; p<0.001], ya que el tiempo pasado en el compartimento asociado al fármaco fue mayor el día del Post-C. La interacción "Dosis x Días" no fue significativa [F(2,27)=0.549; p=0.584].

10.3.2.2. Determinaciones neuroquímicas.

10.3.2.2.1. Análisis de monoaminas cerebrales.

Los resultados se muestran en la tabla 8.

		Sal	M10	Hal0.1	Hal0.2
Estriado	DA	12351 ± 378	12616 ± 629	14674 ± 662	14720 ± 795
	DOPAC	2070 ± 154	2049 ± 198	4094 ± 228**	5923 ± 145**
	HVA	1475 ± 85	1137 ± 48	2480 ± 169**	3513 ± 265**
	5-HT	759 ± 31	758 ± 72	1131 ± 60**	996 ± 82*
	5-HIAA	444 ± 37	311 ± 32*	362 ± 38	328 ± 27
C. Frontal	5-HT	771 ± 40	797 ± 42	659 ± 60	782 ± 14
	5-HIAA	140 ± 9	149 ± 12	144 ± 17	148 ± 10
Hipocampo	5-HT	397 ± 28	420 ± 22	374 ± 52	428 ± 30
	5-HIAA	357 ± 24	288 ± 21	171 ± 46**	219 ± 8*

Tabla 8. Concentraciones cerebrales de monoaminas. Los animales recibieron los siguientes tratamientos: condicionamiento con salino y salino en el día del test (Sal), o condicionamiento con MDMA 10 mg/kg y salino (M10), 0.1 mg/kg de haloperidol (Hal0.1) o 0.2 mg/kg de haloperidol (Hal0.2) en el día del test. Los datos se presentan como media ±S.E.M. Diferencias respecto al grupo salino *p<0.01, ** p<0.001.

Las concentraciones de DA en el estriado no mostraron ningún efecto significativo, pero el ANOVA para los niveles estriatales de DOPAC [F(3,28)=94.212; p<0.001] y HVA [F(3,28)=40.553; p<0.001] revelaron un efecto del tratamiento. Los animales que recibieron cualquiera de las dosis de Haloperidol presentaron mayores niveles de DOPAC y HVA que los otros grupos (p>0.001 en todos los casos). Además, la dosis alta de Haloperidol (MDMA10+Hal0.2) indujo un mayor incremento de DOPAC (p>0.001) con respecto al grupo MDMA10+Hal0.01.

La concentración de 5-HT en el estriado también reveló un efecto del Tratamiento [F(3,28)=8.007; p<0.001]. Se observaron mayores niveles de 5-HT en los animales tratados con Haloperidol en comparación con los grupos salino y MDMA10 (p<0.01 para la dosis alta y p<0.001 para la dosis baja). No se observaron diferencias en las concentraciones de 5-HIAA en el estriado.

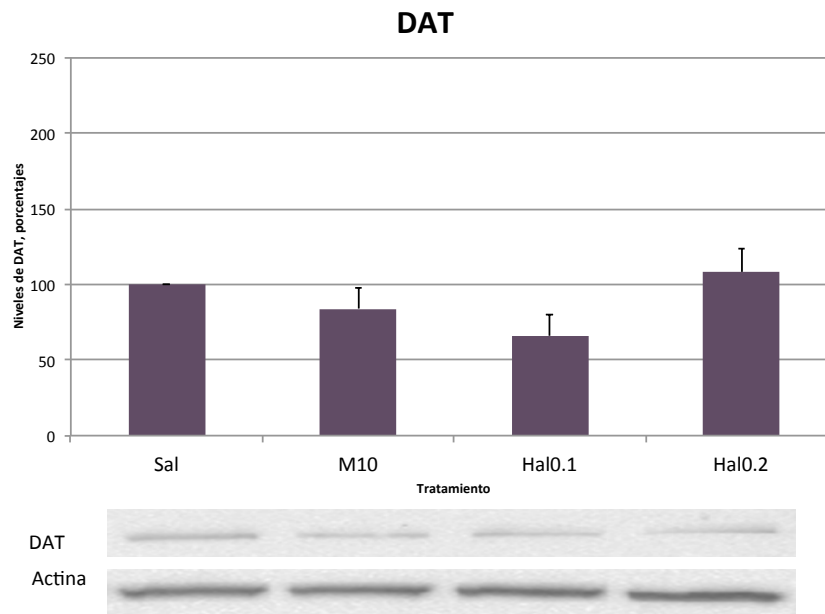
Estudio 3.

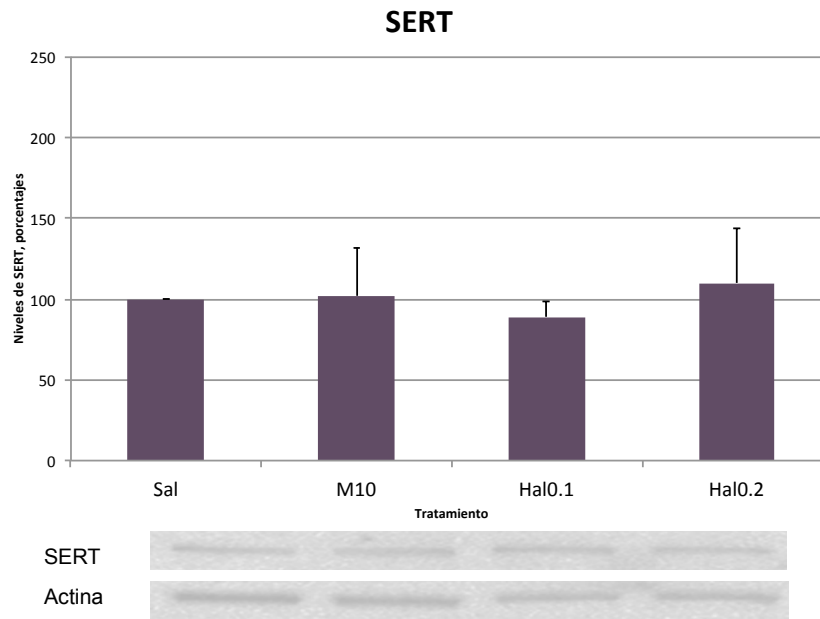
No se observaron diferencias en la corteza frontal en los niveles de 5-HT o 5-HIAA.

La concentración de 5-HT en el hipocampo no mostró ningún efecto significativo, pero el ANOVA para los niveles de 5-HIAA hipocampales reveló un efecto del tratamiento [F(3,28)=7.884; $p < 0.001$], con menores concentraciones en los animales tratados con Haloperidol en comparación con los tratados con salino ($p < 0.001$ para la dosis baja de haloperidol y $p < 0.01$ para la alta).

10.3.2.2.2. Determinación de los transportadores de dopamina y serotonina

Los resultados se representan en las figuras 23 y 24.





Figuras 23 y 24. Concentraciones de DAT y SERT en el estriado. Los animales recibieron los siguientes tratamientos: condicionamiento con salino y salino en el día del test (Sal), o condicionamiento con MDMA 10 mg/kg y salino (M10), 0.1 mg/kg de haloperidol (Hal0.1) o 0.2 mg/kg de haloperidol (Hal0.2) en el día del test. Los datos se presentan como media \pm S.E.M. Diferencias respecto al grupo salino * $p < 0.01$, ** $p < 0.001$.

Los análisis estadísticos indicaron que los tratamientos no modificaron las concentraciones de DAT o SERT.

Estudio 3.

10.4. Efectos del bloqueo del sistema dopaminérgico sobre la reinstauración del CPL inducido por MDMA.

10.4.1. Materiales y métodos.

10.4.1.1. Sujetos.

En la realización de este estudio se emplearon 117 ratones albinos macho de la cepa OF1 adquiridos comercialmente en los laboratorios Charles River (Barcelona, España). Los animales tenían 21 días de edad a su llegada a nuestro laboratorio y fueron alojados en las mismas condiciones descritas en el primer experimento. Los procedimientos de manipulación, tratamiento y cuidado de los animales también se realizaron como se ha descrito previamente.

10.4.1.2. Aparatos y procedimiento.

Los aparatos y el procedimiento empleados en este estudio fueron los mismos a los descritos en el primer experimento, a excepción de que en este estudio, los animales recibieron los antagonistas dopaminérgicos 30 minutos antes del test de reinstauración y/o la MDMA 15 minutos antes del comienzo del mismo, ya que en este estudio se pretendió evaluar el efecto de los antagonistas sobre la reinstauración del CPL inducido por MDMA previamente extinguido.

10.4.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.

Los animales fueron inyectados con MDMA, CGS 10746B, SCH 23390 o Haloperidol. La procedencia, dosis y preparación de los fármacos se realizó igual que en el primer experimento.

Todos los grupos recibieron 10 mg/kg de MDMA en la fase de condicionamiento, diferenciándose en el tratamiento recibido antes del test de reinstauración, conformando los siguientes grupos experimentales:

1. Salino + MDMA 5 (Sal+M5).
2. CGS 10746B 3 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (CGS3+M5).
3. CGS 10746B 10 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (CGS10+M5).
4. SCH 23390 0.125 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (SCH0.125+M5).
5. SCH 23390 0.250 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (SCH0.250+M5).
6. Raclopride 0.3 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (Racl0.3+M5).
7. Raclopride 0.6 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (Racl0.6+M5).
8. Haloperidol 0.1 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (Hal0.1+M5).
9. Haloperidol 0.2 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (Hal0.2+M5).

10.4.1.4. Análisis estadístico.

Durante los tests de extinción y reinstauración, las diferencias en los tiempos de permanencia en el compartimento asociado al fármaco entre el Pre-C y cada sesión de extinción o de reinstauración se analizaron mediante la prueba t de Student. Posteriormente, para evaluar el efecto de los antagonistas en la reinstauración del CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA, los datos del tiempo pasado por los animales en el compartimento asociado al fármaco fueron analizados con cuatro ANOVAs con una variable entre "Dosis de antagonista dopaminérgico" con tres niveles (Sal, dosis baja, dosis alta) y una variable intra "Días", con 4 niveles (Pre-C, Post-C, Extinción y Reinstauración). En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

10.4.2. Resultados.

Los resultados obtenidos pueden observarse en las figuras 25 a 28.

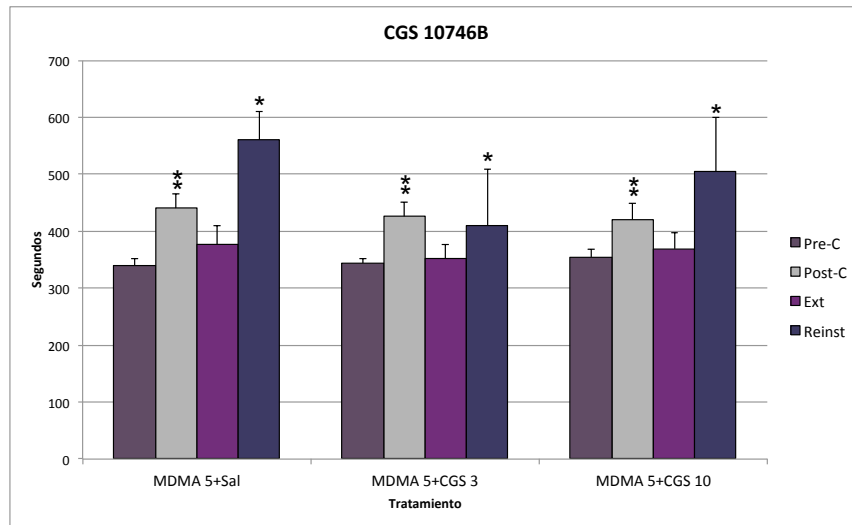


Figura 25: Efecto del CGS 10746B en la reinstauración del CPL inducido por MDMA. Las barras representan el tiempo pasado en el compartimento asociado antes del condicionamiento (morado), durante el test Post-C (gris), durante la última extinción (fucsia) y en el test de reinstauración (azul). Los animales recibieron antes del test de reinstauración Salino + MDMA 5 (Sal-M5, n=8), CGS 10746B 3 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (CGS3+M5, n=10) o CGS 10746B 10 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (CGS10+M5, n=10). Los datos se presentan como media \pm SEM. ** $p < 0.001$, * $p < 0.05$.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron CGS 10746B reveló un efecto significativo de la variable Días [$F(3,23)=12.620$; $p < 0.001$], pero no se observó interacción entre la variable Días x Dosis de CGS [$F(6,48)=0.403$; $p=0.873$]. Las comparaciones post-hoc mostraron que todos los grupos permanecieron más tiempo en el compartimento asociado al fármaco en el Post-C ($p < 0.001$) y en el test de reinstauración ($p < 0.05$) en comparación con el tiempo que permanecieron en este compartimento en el Pre-C.

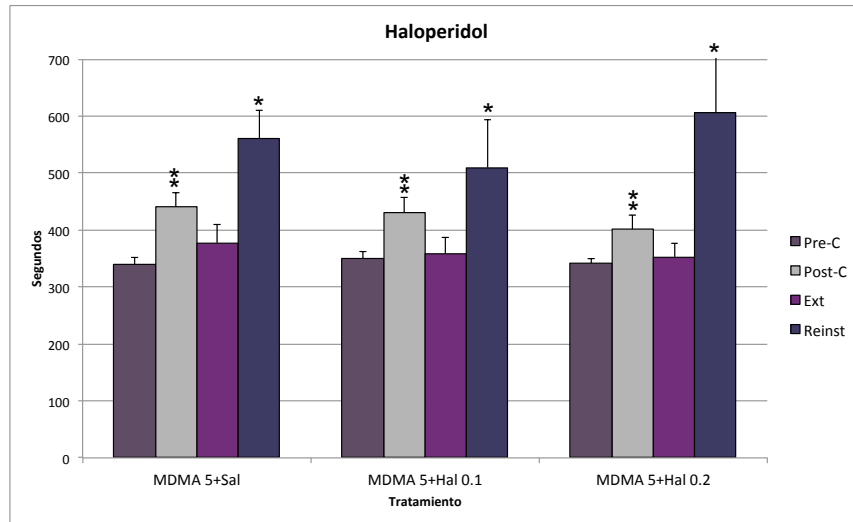


Figura 26: Efecto del haloperidol en la reinstauración del CPL inducido por MDMA. Las barras representan el tiempo pasado en el compartimento asociado antes del condicionamiento (morado), durante el test Post-C (gris), durante la última extinción (fucsia) y en el test de reinstauración (azul). Los animales recibieron antes del test de reinstauración Salino + MDMA 5 (Sal-M5, n=8), Haloperidol 0.1 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (Hal0.1+M5, n=9) o Haloperidol 0.2 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (Hal0.2+M5, n=8). Los datos se presentan como media \pm SEM. ** $p < 0.001$, * $p < 0.05$.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron haloperidol reveló un efecto significativo de la variable Días [$F(3,20)=14.653$; $p < 0.001$], pero no se observó interacción entre la variable Días x Dosis de haloperidol [$F(6,42)=0.357$; $p = 0.902$]. Las comparaciones post-hoc mostraron que todos los grupos permanecieron más tiempo en el compartimento asociado al fármaco en el Post-C ($p < 0.001$) y en el test de reinstauración ($p < 0.05$) en comparación con el tiempo que permanecieron en este compartimento en el Pre-C.

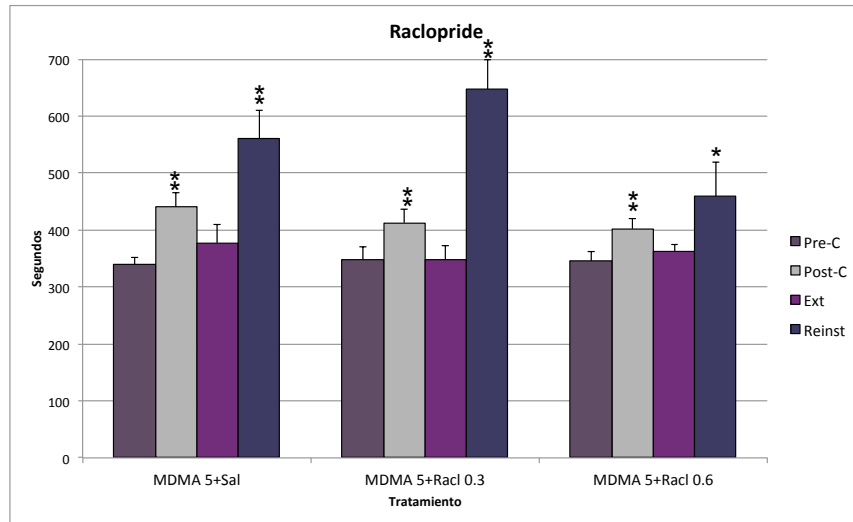


Figura 27: Efecto del Raclopride en la reinstauración del CPL inducido por MDMA. Las barras representan el tiempo pasado en el compartimento asociado antes del condicionamiento (morado), durante el test Post-C (gris), durante la última extinción (fucsia) y en el test de reinstauración (azul). Los animales recibieron antes del test de reinstauración Salino + MDMA 5 (Sal+M5, n=8), Raclopride 0.3 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (Racl0.3+M5, n=8) o Raclopride 0.6 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (Racl0.6+M5, n=10). Los datos se presentan como media \pm SEM. ** $p < 0.001$, * $p < 0.05$.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron raclopride reveló un efecto significativo de la variable Días [$F(3,21)=20.618$; $p < 0.001$], pero no se observó interacción entre la variable Días x Dosis de raclopride [$F(6,44)=1.258$; $p=0.296$]. Las comparaciones post-hoc mostraron que todos los grupos permanecieron más tiempo en el compartimento asociado al fármaco en el Post-C ($p < 0.001$) y en el test de reinstauración ($p < 0.01$) en comparación con el tiempo que permanecieron en este compartimento en el Pre-C.

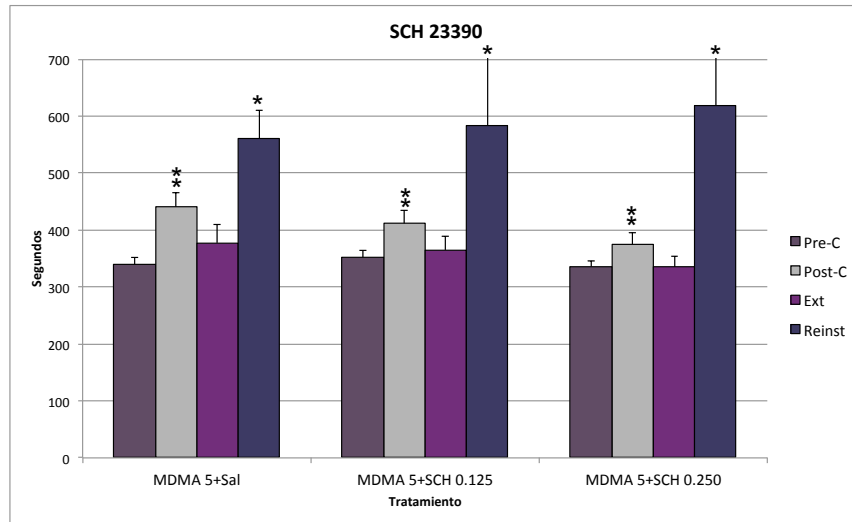


Figura 28: Efecto del SCH 23390 en la reinstauración del CPL inducido por MDMA. Las barras representan el tiempo pasado en el compartimento asociado antes del condicionamiento (morado), durante el test Post-C (gris), durante la última extinción (fucsia) y en el test de reinstauración (azul). Los animales recibieron antes del test de reinstauración Salino + MDMA 5 (Sal+M5, n=8), SCH 23390 0.125 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (SCH0.125+M5, n=8) o SCH 23390 0.250 mg/kg + MDMA 5 mg/kg (SCH0.250+M5, n=8). Los datos se presentan como media \pm SEM. ** $p < 0.001$, * $p < 0.05$.

El ANOVA realizado con los grupos que recibieron SCH 23390 reveló un efecto significativo de la variable Días [$F(3,21)=11.247$; $p < 0.001$], pero no se observó interacción entre la variable Días x Dosis de SCH 23390 [$F(6,44)=0.790$; $p = 0.582$]. Las comparaciones post-hoc mostraron que todos los grupos permanecieron más tiempo en el compartimento asociado al fármaco en el Post-C ($p < 0.001$) y en el test de reinstauración ($p < 0.05$) en comparación con el tiempo que permanecieron en este compartimento en el Pre-C.

10.5. Discusión.

Nuestros resultados confirman el importante papel de la transmisión dopaminérgica en la adquisición del CPL inducido por MDMA en ratones adolescentes. El bloqueo de los receptores D_1 , D_2 o de ambos tipos a dosis que no inducen efectos motivacionales durante la fase de condicionamiento, bloquea de forma eficiente el desarrollo del CPL inducido por MDMA. Hemos obtenido resultados similares con el inhibidor de la liberación de DA CGS 10746B. Además, la expresión del CPL sólo se bloqueó con el antagonista D_1/D_2 , haloperidol. Sin embargo, no se encontró implicación de la neurotransmisión dopaminérgica en la reinstauración del CPL inducido por MDMA, ya que ninguno de los fármacos empleados fueron capaces de bloquear la reinstauración inducida por MDMA.

Se asume que el paradigma del CPL refleja las propiedades motivacionales secundarias de las drogas y su potencial de abuso (Di Chiara, 1999; Tzschentke, 2007). De acuerdo con esta hipótesis, algunos antagonistas dopaminérgicos pueden producir Condicionamiento de Aversión de Lugar (CAL), mientras que la administración de 10 mg/kg de MDMA causa CPL, un efecto observado en ratones (Daza-Losada y cols., 2007, 2009, 2010, 2011; Rodríguez-Arias y cols., 2010). En el presente estudio, la administración de diferentes antagonistas dopaminérgicos no produjo efectos motivacionales, con la excepción del antagonista D_1 SCH 23390. Con la mayor dosis empleada (0.25 mg/kg), el bloqueo de los receptores D_1 produjo CAL, un resultado que coincide con diferentes trabajos (Acquas y cols., 1989; Acquas y Di Chiara, 1994; Manzanedo y cols., 2001b;). La DA ejerce sus efectos por medio de dos familias de receptores definidos en base a su perfil farmacológico, función y homología: los receptores de la familia D_1 , que incluyen los receptores D_1 y D_5 y la familia D_2 , que incluye los receptores D_2 , D_3 y D_4 (Vallone y cols., 2000). La estimulación de los receptores de la familia D_1 conduce a la activación de la adenil ciclasa y de la cascada de AMPc dependiente de la proteína kinasa (Stoof y Keibian, 1981). Se encuentran principalmente en el córtex, hipocampo, caudado y N. Acc. Los receptores de la familia D_2 están acoplados a una proteína G que inhibe la adenil ciclasa y así, la cascada AMPc-PKA. Los receptores D_2 , D_3 y D_4 se

encuentran en numerosas regiones cerebrales, incluyendo el caudado, putamen y N. Acc (Vallone y cols., 2000).

Se sabe que el sistema dopaminérgico juega un importante papel en la adquisición del CPL inducido por diferentes drogas. El CPL inducido por morfina se bloquea cuando el haloperidol, el SCH 23390 o el raclopride se administran durante la fase de condicionamiento (Manzanedo y cols., 2001b). Se ha identificado un papel de los receptores D₁ en el CPL inducido por cocaína, ya que el SCH 23390 bloquea el desarrollo de preferencia condicionada (Sershen y cols., 2010). De acuerdo con esto, los ratones KO para los receptores D₁ no desarrollan AA de cocaína (Xu y cols., 2000; Caine y cols., 2007; Chen y Xu, 2010). Aunque no existen trabajos previos sobre el papel de los receptores dopaminérgicos en el CPL inducido por MDMA, estudios con AA han encontrado que tanto los receptores D₁ como los D₂ contribuyen al mantenimiento de la AA de MDMA (Daniela y cols., 2004; Brennan y cols., 2009). Nuestros resultados apoyan la importancia del papel de los receptores D₁ en la adquisición del CPL inducido por MDMA, ya que el antagonista SCH 23390 lo bloqueó de manera efectiva con unas dosis que no induce efectos motivacionales. De forma similar, la administración de la dosis más alta del antagonista D₂ raclopride bloqueó el CPL inducido por MDMA. Estos resultados avalan la hipótesis de que los receptores D₂ son tan importantes como los D₁ en la recompensa. Igualmente, el desarrollo del CPL se bloqueó con la dosis más alta de haloperidol, administrada durante la fase de condicionamiento. En este sentido, los presentes resultados demuestran que la estimulación de los receptores D₁ y D₂ es necesaria para la adquisición del CPL inducido por MDMA, como también lo es para otras drogas.

El CGS 10746B atenúa la liberación de DA sin unirse a los sitios de unión de los receptores dopaminérgicos (Altar y cols., 1986). De acuerdo con trabajos previos, este fármaco no tiene propiedades recompensantes o aversivas a las dosis empleadas (Manzanedo y cols., 2001b). La liberación de DA está implicada en el CPL inducido por morfina (Manzanedo y cols., 2001a), cocaína y MDMA (Bilsky y cols., 1998). Los presentes resultados apoyan estos hallazgos previos y refuerzan la idea de que el efecto recompensante de la MDMA en el paradigma del CPL está

Estudio 3.

mediado de manera esencial por el sistema dopaminérgico también en ratones adolescentes.

Varios procesos son necesarios para la adquisición del CPL. El estímulo debe ser recompensante y el animal debe asociar este efecto con las claves ambientales, lo que implica un aprendizaje asociativo. La alteración de uno de estos procesos se puede manifestar como una reducción en la preferencia por el compartimento asociado con el fármaco. El hecho de que los antagonistas dopaminérgicos y la inhibición de la liberación de DA bloqueen la adquisición del CPL inducido por MDMA, significa que este neurotransmisor es crítico para uno o ambos procesos. De forma similar a lo observado con otras drogas, los estudios con microdiálisis han mostrado un incremento preferente de la DA sináptica en la corteza del N. Acc. tras la exposición a MDMA (Cadoni y cols., 2005). Una única administración de 10 mg/kg de MDMA produce un incremento en la DA comparable al producido por otros estimulantes empleados en los estudios de discriminación de drogas (Nair y Gudelsky, 2004; Gudelsky y Nash, 1996; Colussi-Mas y cols., 2010). Así, la alteración de la neurotransmisión dopaminérgica puede impedir que los animales experimenten el efecto reforzante de la MDMA. Por otro lado, el CPL puede verse como una tarea de aprendizaje incentivo. De acuerdo con esto, durante las sesiones de condicionamiento, los estímulos del compartimento asociados con la recompensa incrementan su capacidad de desencadenar conductas de aproximación y otras respuestas. Durante el test, los animales pasan más tiempo allí gracias a este aprendizaje (Beninger y cols., 1989). El aprendizaje incentivo puede ser dependiente de la actividad de la DA en los receptores D₁. Así, el antagonista D₁ SCH 23390 bloquea no solo la adquisición del CPL inducido por varias drogas, sino también la adquisición de un condicionamiento aversivo de sabor, alterando la formación de la memoria a corto plazo del estímulo condicionado gustativo. Sin embargo, no se ha observado un efecto del bloqueo de los receptores D₂ con el raclopride (Fenu y cols., 2001).

Como hemos informado previamente, el CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA no induce un descenso en la DA o ninguna alteración en la 5-HT (Daza-Losada y cols., 2007). El bloqueo del CPL inducido por MDMA por cualquiera de los fármacos

dopaminérgicos empleados se acompañó de un incremento en la concentración de DA en el estriado (más evidente tras la administración de SCH 23390 y haloperidol) junto con un descenso en los niveles de DOPAC, lo que conduce a un descenso en la tasa de recambio de DA. Un descenso similar también se observó en la tasa de recambio de 5-HT en el estriado e hipocampo, debido al marcado descenso del metabolito 5-HIAA, en ausencia de alteración en los niveles de 5-HT. Estos resultados coinciden con la observación de que la administración aguda de neurolépticos incrementa la tasa de disparo e incrementa la liberación sináptica de DA (Blaha y Lane, 1984; Imperato y Di Chiara, 1984) por medio del bloqueo de los receptores o autorreceptores dopaminérgicos (Lidsky y Banerjee, 1993; Kapur y Mamo, 2003). No se observaron cambios en la concentración de los transportadores de 5-HT o DA, aunque todos los fármacos tendieron a incrementar la concentración del SERT, produciendo el haloperidol y el CGS 10746B los incrementos más importantes.

El procedimiento del CPL es útil para distinguir el efecto de los fármacos en la adquisición versus la expresión del aprendizaje. La adquisición tiene lugar durante las sesiones de condicionamiento en las que se está produciendo la asociación, y la expresión se evalúa el día después de la última sesión de condicionamiento. Los fármacos pueden administrarse durante la fase de adquisición o bien el día del test tras el condicionamiento. Si después de haber adquirido normalmente un CPL, los animales reciben el fármaco el día del test y el CPL no se observa, se considera que el compuesto experimental ha bloqueado la expresión del CPL. El presente estudio muestra que la DA está implicada en la expresión del CPL inducido por MDMA, pero que ambos receptores, D₁ y D₂ deben bloquearse de forma simultánea para que se produzca el bloqueo de la expresión. Sólo el haloperidol (en ambas dosis) bloqueó la expresión del CPL inducido por MDMA. Además, nuestros resultados son similares a los de Adams y cols. (2001), quienes encontraron que el haloperidol bloqueó la expresión de un CPL inducido por cocaína en ratas, mientras que el SCH 23390 no tuvo este efecto. Otros trabajos han demostrado que se requiere el antagonismo simultáneo de los receptores D₁ y D₂ para bloquear la expresión de un CPL inducido por cocaína (Lawley y Kantak, 1990; Liao y cols., 1998), lo que indica la implicación de la liberación condicionada de DA en los mecanismos de expresión.

Estudio 3.

Los animales tratados con haloperidol el día del test presentaron niveles de DA similares a los de los animales controles tratados con 10 mg/kg de MDMA, aunque sus niveles de DOPAC y HVA fueron mayores, lo que produce un incremento en la tasa de recambio de DA. Además, estos animales presentaron mayores niveles de 5-HT en el estriado, sin que esto se acompañara de cambios en la concentración de su metabolito. Así, los animales que no mostraron preferencia por el compartimento asociado con MDMA bajo el efecto del haloperidol presentaron durante el test un incremento en la tasa de recambio de DA y un descenso en la tasa de recambio de 5-HT en el estriado. Las diferencias con los resultados obtenidos tras la administración de haloperidol durante la fase de adquisición, pueden deberse a que durante la adquisición del CPL se realizaron cuatro administraciones de haloperidol y que las monoaminas se evaluaron 24 horas después de la última administración, mientras que en la evaluación de la expresión la medida de monoaminas se refiere a 30 minutos después de una única administración del neuroléptico. No se observaron alteraciones en las concentraciones de los transportadores de DA o 5-HT.

Los recuerdos de las asociaciones realizadas entre las claves ambientales y las propiedades recompensantes de las drogas son difíciles de extinguir y contribuyen de forma significativa a la elevada propensión a las recaídas (Kalivas y Volkow, 2005; Hyman y cols., 2006; Kauer y Malenka, 2007; Kalivas y O'Brien, 2008). Los resultados del presente estudio demuestran que el sistema dopaminérgico no está implicado en la reinstauración del CPL inducido por MDMA en ratones adolescentes. De acuerdo con resultados previos (Daza-Losada y cols., 2007, 2011; Ribeiro Do Couto y cols., 2011a, 2011b; Manzanedo y cols., 2010; Rodríguez-Arias y cols., 2010), tras la extinción de un CPL inducido por MDMA, una dosis priming de 5 mg/kg produce la reinstauración de la preferencia previamente extinguida, incluso cuando se combina con cualquiera de los antagonistas empleados o con el inhibidor de la liberación de DA.

Cuando se compara con otras drogas de abuso, existe una relativa escasez de estudios en los que se evalúe la reinstauración de la AA de MDMA. En un reciente trabajo, Schenk y cols. (2011) observaron que un pretratamiento con SCH 23390 o con el antagonista de los receptores D₂ eticlopride redujo la respuesta producida por

una administración priming de MDMA. Estos autores han propuesto que habría ocurrido un cambio en los efectos de la MDMA sobre la 5-HT y la DA como resultado de la AA, ya que este procedimiento induce un descenso en las concentraciones cerebrales de 5-HT. Como consecuencia, la DA sináptica puede verse incrementada, lo que conduciría a que el consumo y la búsqueda de la droga estuviera controlada por mecanismos dopaminérgicos. Si esto fuera así, se esperaría que manipulaciones del sistema dopaminérgico afectaran a la búsqueda de la droga. El hecho de que la MDMA no afectara los niveles de DA o 5-HT en nuestro estudio podría explicar las diferencias con respecto a los resultados que nosotros hemos observado.

Aunque la mayoría de los resultados obtenidos empleando el modelo de la reinstauración del CPL confirman los obtenidos con la reinstauración de AA, en ocasiones se observan resultados discrepantes. Estas inconsistencias pueden deberse a diferencias en la metodología (especie, cepa, sexo o edad de los animales empleados o dosis empleadas) o a los diferentes requerimientos necesarios para determinar la reinstauración (presionar una palanca frente a permanecer en un compartimento previamente asociado con el fármaco). Además, hay que considerar que los paradigmas de CPL y AA evalúan aspectos diferentes de la recompensa, y con ello diferentes características de la conducta adictiva. La reinstauración de la AA tras la extinción implica la restauración de una respuesta operante concreta, mientras que la reinstauración en el CPL consiste en la reaparición de la conducta de acercamiento a un contexto asociado con el fármaco (Aguilar y cols., 2009). De forma similar a lo observado en el presente estudio, los experimentos de AA han demostrado que la manipulación de la neurotransmisión dopaminérgica bloquea la reinstauración de la AA de heroína (Ettenberg y cols., 1996; Shaham y Stewart, 1996; De Vries y cols., 2002), mientras que el SCH 23390, el raclopride, el haloperidol y el CGS 10746B no bloquearon el CPL inducido por un priming de morfina (Ribeiro Do Couto y cols., 2005). Cuando se evalúa la reinstauración de cocaína empleando los modelos de AA o CPL, los efectos de los antagonistas dopaminérgicos también varían. La capacidad del agonista D₁ SKF 81297 para reinstaurar el CPL inducido por cocaína (Graham y cols., 2007) contrasta con su incapacidad para reinstaurar la búsqueda de cocaína o con su efecto de atenuación

Estudio 3.

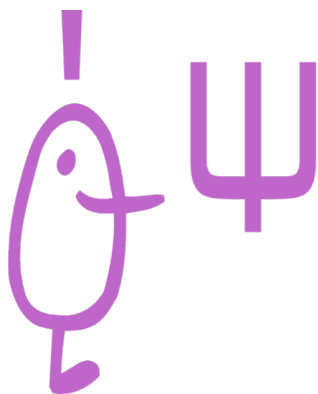
de la reinstauración de la AA cuando esta se induce mediante cocaína o mediante claves (Self y cols., 1996; Alleweireldt y cols., 2002).

Otros sistemas de neurotransmisión, como el sistema glutamatérgico o cannabinoide, también pueden estar implicados en la reinstauración de la conducta de búsqueda de MDMA. La implicación del sistema cannabinoide en la reinstauración de MDMA ha sido demostrado por Manzanedo y cols. (2010). El sistema glutamatérgico también está implicado en el CPL inducido por anfetamina (Sadler y cols., 2007) y otras drogas como la morfina (Ribeiro Do Couto y cols., 2005), por lo que también pudiera estarlo en el caso de la MDMA.

Como conclusión, el presente trabajo demuestra que el sistema dopaminérgico está implicado en la adquisición y la expresión del CPL inducido por MDMA, pero no en la reinstauración del CPL en ratones adolescentes.

Estudio 4:

Efectos de la inhibición de la
recaptación de dopamina sobre la
adquisición del CPL inducido por
MDMA



11.1. Introducción.

La MDMA es un derivado anfetamínico cuyos principales efectos son la mejora en el estado de ánimo, euforia, cercanía y apertura a los otros (Gudelsky y Yamamoto, 2008). Su consumo se ha extendido en los últimos años, incrementándose la prevalencia de su consumo a nivel global, así como la cantidad de pastillas consumidas en una ocasión o el consumo continuado durante periodos de al menos 48 h (George y cols., 2010). Algunos consumidores cumplen criterios para su abuso o dependencia, existiendo evidencias de síntomas de abstinencia (Leung y Cottler, 2008) y frecuentemente son también consumidores de cocaína (Parrot y cols., 2000). En estudios animales, ambas drogas administradas independientemente son capaces de inducir CPL (e.g. Bardo y cols., 1995; Bilsky y cols., 1990, 1991, 1998; Daza-Losada y cols., 2007, 2009, 2011; Do Couto y cols., 2009, 2011; Rodríguez-Arias y cols., 2009, 2010; Catlow y cols., 2010; Manzanedo y cols., 2010) y son consumidas en el modelo de AA (Carroll y cols., 1990; Ratzenboeck y cols., 2001; Schenk y cols., 2003; Fipil, 2005; Trigo y cols., 2006; Belin y cols., 2008;). Por otro lado una dosis *priming* de cocaína puede reinstaurar la AA (Schenk y cols., 2008; Trigo y cols., 2009) y el CPL (Daza-Losada y cols., 2009a) inducido por MDMA, existiendo por tanto reinstauración cruzada entre ambas drogas.

El principal mecanismo por el que la cocaína ejerce sus efectos es mediante la inhibición del DAT, bloqueando la recaptación presináptica de DA y de esta forma incrementando su disponibilidad en los receptores postsinápticos tipo D₁ y D₂. En cuanto a su efecto reforzante, éste se relaciona con el incremento de la neurotransmisión dopaminérgica en el N. Acc. (Kalivas y Duffy, 1993; Heidbreder y cols., 1996; Veeneman y cols., 2011). Por su parte, la MDMA incrementa la neurotransmisión dopaminérgica principalmente mediante estimulación serotoninérgica; funciona como un agonista monoaminérgico que induce liberación presináptica de DA y 5-HT (Yamamoto y Spanos, 1988; Gough y cols., 1991; White y cols., 1994; Koch y Galloway, 1997; Kankaanpaa y cols., 1998; Green y cols., 2003; Escobedo y cols., 2005), principalmente invirtiendo el funcionamiento del SERT, y como la cocaína, incrementa la transmisión dopaminérgica en el N. Acc.

Estudio 4.

(White y cols., 1994; Kankaanpaa y cols., 1998; Robledo y cols., 2004b; O'Shea y cols., 2005; Cadoni y cols., 2005).

La DA juega un importante papel en los efectos de la MDMA. Así, diversos estudios han mostrado como el bloqueo de los receptores D₁ y D₂ atenúan de forma significativa el incremento en la actividad motora inducida por la MDMA en ratas (Kehne y cols., 1996; Ball y cols., 2003; Benturquia y cols., 2008) y el incremento inducido por MDMA en la expresión de genes de expresión temprana en el estriado (Shirayama y cols., 2000), aunque Benturquia y cols. (2008) sólo han encontrado un efecto parcial con el antagonista D₁ SCH 23390. En humanos también ha podido observarse la implicación de los receptores dopaminérgicos en los efectos de la MDMA, ya que el haloperidol atenúa los efectos subjetivos positivos de la MDMA sin afectar a otros efectos subjetivos o cardiovasculares (Liechti y Vollenweider, 2000).

Existen pocos estudios sobre el papel de la DA en los efectos reforzantes de la MDMA, y la mayoría de ellos emplea el modelo de AA. La AA de MDMA muestra un desplazamiento a la derecha en la curva dosis-respuesta cuando se administra un pretratamiento con el antagonista dopaminérgico D₁ SCH 23390 (Daniela y cols., 2004) o un incremento en la tasa de respuestas con el antagonista D₂ eticlopride (Brennan y cols., 2009) y también se ha establecido la participación de mecanismos dopaminérgicos en la conducta de búsqueda de la droga tras la extinción de la AA de MDMA (Schenk y cols., 2011). En el modelo de CPL también se ha determinado la participación del sistema dopaminérgico en el efecto recompensante de la MDMA, de forma que el inhibidor de la liberación de DA CGS 10746B bloquea el CPL inducido por MDMA (Bilsky y cols., 1998).

La administración repetida de MDMA induce sensibilización a los efectos conductuales de administraciones posteriores de MDMA (Kalivas y cols., 1998; Itzhak y cols. 2003; Ramos y cols., 2004; Colussi-Mas y Schenk, 2008) y sensibilización cruzada a los efectos conductuales y neuroquímicos de la cocaína (Morgan y cols., 1997; Kalivas y cols., 1998; Achat-Mendes y cols., 2003; Itzhak y cols. 2003). Por su parte la administración repetida de cocaína induce igualmente sensibilización a sus efectos conductuales y neuroquímicos (Heidbreder y cols.,

1996; Brown y cols., 2010), así como al de otras drogas como la MDMA (Peraile y cols., 2010).

En este sentido, la administración de MDMA a ratones adolescentes incrementa su sensibilidad a las propiedades recompensantes de esta droga (Daza-Losada y cols., 2009) y de otras como la morfina (Daza-Losada y cols., 2008) o la cocaína (Horan y cols., 2000; Fletcher y cols., 2001; Fone y cols., 2002; Aberg y cols., 2007), aunque estos efectos pueden depender del protocolo empleado, ya que Cole y cols. (2003) no confirmaron estos resultados empleando una dosis de 20 mg/kg de cocaína en el condicionamiento, y Aberg y cols. (2007) observaron que ratas adultas a las que se les había administrado un pretratamiento con MDMA cinco días antes del condicionamiento, mostraron una reducción del CPL inducido por 10 mg/kg de cocaína.

En la mayoría de trabajos que evalúan el efecto de la exposición a la cocaína u otros psicoestimulantes en el efecto reforzante de otras drogas, éstos incrementan el CPL o la AA de cocaína, morfina o MDMA (Shippenber y cols., 1998; Horan y cols., 2000; Schenk e Izenwasser, 2002; Suto y cols., 2002; Kim y cols., 2004; Daza-Losada y cols., 2009), aunque Schramm-Sapyta y cols. (2004) no observaron efecto de la exposición a la cocaína en el CPL inducido por cocaína posteriormente, y Daza-Losada y cols. (2008) observaron que la exposición a cocaína en la adolescencia disminuye la sensibilidad a la reinstauración del CPL inducido por morfina.

En el presente estudio hemos evaluado el efecto de la administración conjunta de cocaína y MDMA durante la adquisición del CPL, así como el efecto de un pretratamiento con cocaína sobre la adquisición de un CPL inducido por una dosis no efectiva de MDMA.

Estudio 4.

11.2. Efectos de la cocaína sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.

11.2.1. Materiales y métodos.

11.2.1.1. Sujetos.

En la realización de este estudio se emplearon 90 ratones albinos macho de la cepa OF1 adquiridos comercialmente en los laboratorios Charles River (Barcelona, España). Los animales tenían 21 días de edad a su llegada a nuestro laboratorio y fueron alojados en las condiciones descritas. Los procedimientos de manipulación, tratamiento y cuidado de los animales también se realizaron como se ha descrito previamente.

11.2.1.2. Aparatos y procedimiento.

Los aparatos y el procedimiento empleados en este experimento fueron los mismos a los descritos en primer experimento, a excepción de que en este, los animales recibieron la cocaína 30 minutos antes de la sesión de condicionamiento y/o la MDMA inmediatamente antes del comienzo de la misma, ya que en este estudio se pretendió evaluar el efecto del inhibidor de la recaptación de DA en la adquisición del CPL inducido por 1.25 mg/kg de MDMA.

11.2.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.

Los animales fueron inyectados con 1.25 mg/kg de MDMA y/o 1 o 10 mg/kg de cocaína (hidrocloruro de cocaína, Laboratorios Alcaliber, Madrid) en un volumen de 0.01 ml/g. Los grupos control recibieron solución salina fisiológica (NaCl 0.9%), que fue empleada igualmente para disolver los fármacos.

Los animales recibieron los fármacos durante la fase de condicionamiento, inmediatamente antes de entrar a las cajas. Los grupos experimentales fueron los siguientes:

1. Salino + MDMA 1.25 mg/kg (Sal+M1.25).
2. Cocaína 1 mg/kg + MDMA 1.25 (Coc1+M1.25).
3. Cocaína 10 mg/kg + MDMA 1.25 (Coc10+M1.25).

Los grupos que mostraron CPL fueron sometidos a sesiones de extinción y posteriormente a una dosis *priming* de MDMA (0.625 mg/kg) antes del test de reinstauración, como se ha explicado previamente.

Posteriormente 3 grupos adicionales (n=15) recibieron un tratamiento farmacológico equivalente al que recibieron los grupos con los que se realizó el CPL, para realizar las determinaciones neuroquímicas.

11.2.1.4. Análisis estadístico.

Para evaluar el efecto de la inhibición de la recaptación de DA en la adquisición del CPL inducido por 1.25 mg/kg de MDMA, los datos del tiempo pasado por los animales en el compartimento asociado al fármaco fueron analizados con un ANOVA con una variable entre "Cocaína" con 3 niveles (Sal, Coc 1, Coc 10) y una variable intra "Días", con 2 niveles (Pre-C y Post-C). Para los grupos que presentaron CPL, se realizó un ANOVA adicional con una variable intra "Días", con 4 niveles (Pre-C, Post-C, Ext, y Reinst). En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

Para evaluar el efecto del tratamiento empleado en el condicionamiento sobre las concentraciones de monoaminas cerebrales, los datos se analizaron empleando un ANOVA con una variable entre "Cocaína" con tres niveles (Sal, Coc 1, Coc 10). En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

Estudio 4.

11.2.2. Resultados.

11.2.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.

Los resultados obtenidos se pueden ver en la figura 29.

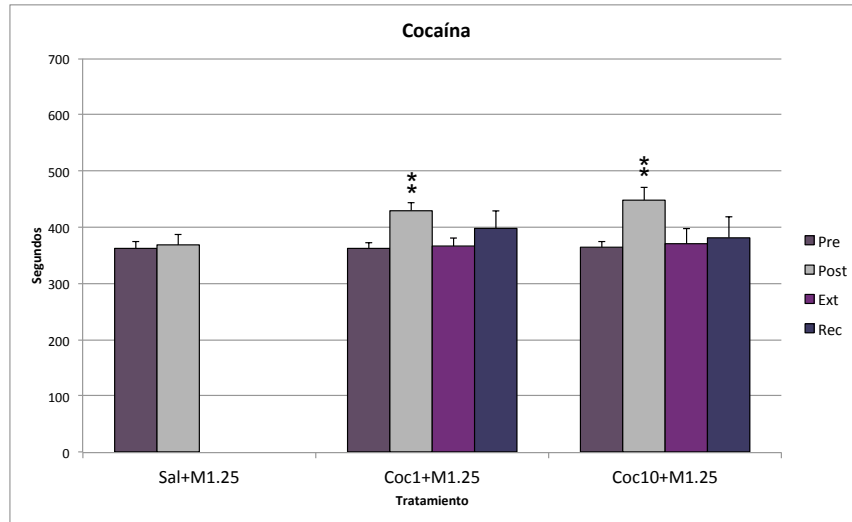


Figura 29: Adquisición del CPL inducido por 1.25 mg/kg de MDMA junto con 0 (Sal+M1.25, n=14), 1 (Coc1+M1.25, n=13), o 10 mg/kg (Coc10+M1.25, n=12) de cocaína. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado), Post-C (gris), Ext. (fucsia) y Rec. (azul). Diferencias significativas respecto al Pre-C ** $p < 0.01$.

El ANOVA con los 3 grupos mostró un efecto significativo de las variables “Días” [F(1,36)=21.846; $p < 0.001$], Cocaína [F(2,36)=3.336; $p < 0.05$] y de la interacción “Días x Cocaína” [F(2,36)=4.592; $p < 0.05$]. El tiempo pasado en el compartimento asociado al fármaco fue mayor en el día del Post-C, y se observaron mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado al fármaco el día del Post-C en el grupo que recibió 10 mg/kg de Cocaína + 1.25 mg/kg de MDMA en comparación con los animales que recibieron salino + 1.25 mg/kg de MDMA ($p < 0.05$), así como diferencias entre el día del Pre-C y el día del Post-C en los grupos que recibieron 1 o

10 mg/kg de cocaína junto con la MDMA ($p < 0.01$). Por tanto, la cocaína incrementó el efecto reforzante de la MDMA (Fig. 29).

El ANOVA realizado con los grupos que resultaron condicionados mostró un efecto de la variable "Días" [$F(3,21)=14.708$; $p < 0.001$], pero ninguno de los grupos mostró diferencias en el tiempo transcurrido en el compartimento asociado con el fármaco en el test de reinstauración, en comparación con el tiempo pasado en el Pre-C.

11.2.2.2. Análisis de monoaminas cerebrales.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 9.

		Sal-M1.25	Coc1-M1.125	Coc10-M1.125
Estriado	DA	17960 ± 845	18992 ± 653	16665 ± 844
	DOPAC	1357 ± 200	1289 ± 124	1135 ± 182
	HVA	1095 ± 87	1274 ± 96	1039 ± 89
	DA turnover	.074 ± .0086	.0686 ± .0086	.0663 ± .0077
	5-HT	1099 ± 66	1134 ± 68	887 ± 84
	5-HIAA	250 ± 16	251 ± 10	220 ± 39
	5-HT turnover	.2282 ± .012	.177 ± .0381	.2413 ± .0190
Frontal	5-HT	782 ± 40	841 ± 55	719 ± 48
	5-HIAA	100 ± 7	94 ± 9	89 ± 8
	5-HT turnover	.1302 ± .0116	.1136 ± .0130	.1253 ± .0100
Hipocampo	5-HT	597 ± 71	646 ± 55	507 ± 23
	5-HIAA	211 ± 24	223 ± 36	225 ± 14
	5-HT turnover	.363 ± .0332	.341 ± .0414	.4439 ± .0236

Tabla 9: Concentración de monoaminas en estriado, córtex frontal e hipocampo de animales condicionados con salino (Sal), Cocaína 1 mg/kg (Coc1) o Cocaína 10 mg/kg (Coc10) junto con MDMA 1.25 mg/kg. Los datos se presentan como media ± S.E.M.

El análisis de los datos sólo reveló una diferencia entre los grupos de tratamiento en la tasa de recambio de 5-HT en el hipocampo [$F(2,17)=4.698$; $p < 0.05$], presentando los animales que recibieron 10 mg/kg de cocaína un incremento en este índice en comparación con los animales que recibieron 1 mg/kg de cocaína ($p < 0.05$).

Estudio 4.

11.3. Efectos de un pretratamiento con cocaína sobre la adquisición del CPL inducido por MDMA.

11.3.1 Materiales y métodos.

11.3.1.1 Sujetos.

En la realización de este estudio se emplearon 90 ratones albinos macho de la cepa OF1 adquiridos comercialmente en los laboratorios Charles River (Barcelona, España). Los animales tenían 21 días de edad a su llegada a nuestro laboratorio y fueron alojados en las condiciones descritas. Los procedimientos de manipulación, tratamiento y cuidado de los animales también se realizaron como se ha descrito previamente.

11.3.1.2. Aparatos y procedimiento.

Los aparatos y el procedimiento empleados en este estudio fueron los mismos a los descritos en el Estudio 1, a excepción de los pretratamientos que se detallan a continuación.

11.3.1.3. Tratamiento farmacológico y diseño experimental.

Los animales fueron inyectados con 1.25 mg/kg de MDMA y/o 1 o 10 mg/kg de cocaína (hidrocloruro de cocaína, Laboratorios Alcaliber, Madrid) en un volumen de 0.01 ml/g. Los grupos control recibieron solución salina fisiológica (NaCl 0.9%), que fue empleada igualmente para disolver los fármacos. La procedencia, preparación y administración de los fármacos fueron las mismas anteriormente descritas.

Los animales recibieron un pretratamiento entre los PND 25 y 29, consistente en una administración de Cocaína o salino al día, durante 5 días, seguido de 6 días en los que los animales no recibieron tratamiento farmacológico. Posteriormente se comenzó el condicionamiento que se realizó entre los PND 36 y 43, en el que todos

los grupos recibieron 1.25 mg/kg de MDMA. Así, los grupos se diferenciaron en el pretratamiento recibido, conformando los siguientes grupos experimentales:

1. Pretratamiento con Salino – Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Sal).
2. Pretratamiento con Cocaína 1 mg/kg - Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Coc 1).
3. Pretratamiento con Cocaína 10 mg/kg - Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Coc 10).

Los grupos que mostraron CPL fueron sometidos a sesiones de extinción y posteriormente a una dosis *priming* de MDMA (0.625 mg/kg) antes del test de reinstauración, como se ha explicado previamente.

Posteriormente 3 grupos adicionales (n=15) recibieron un tratamiento farmacológico equivalente al que recibieron los grupos con los que se realizó el CPL, para las determinaciones neuroquímicas.

11.3.1.4. Análisis estadístico.

Para evaluar el efecto de la un pretratamiento con cocaína en la adquisición del CPL inducido por 1.25 mg/kg de MDMA, los datos del tiempo pasado por los animales en el compartimento asociado al fármaco fueron analizados con un ANOVA con una variable entre "Pretratamiento" con 3 niveles (Sal, Coc 1, Coc 10) y una variable intra "Días", con 2 niveles (Pre-C y Post-C).

Posteriormente se realizó otro ANOVA con los grupos que recibieron cocaína en el pretratamiento, ya que mostraron CPL tras el condicionamiento, con una variable entre "Pretratamiento" con 2 niveles (Coc 1 y Coc 10) y una variable intra "Días", con 4 niveles (Pre-C, Post-C, Ext, Reinst).

Por último se realizó un ANOVA con el grupo Coc 1, con una variable intra "Días", con 6 niveles (Pre-C, Post-C, Ext, Reinst, Ext2, Reinst2).

Para evaluar el efecto del tratamiento empleado en el condicionamiento sobre las concentraciones de monoaminas cerebrales, los datos se analizaron empleando un

Estudio 4.

ANOVA con una variable entre “Cocaína” con tres niveles (Sal, Coc 1, Coc 10). En las comparaciones post hoc se empleó el ajuste de Bonferroni.

11.3.2. Resultados.

11.3.2.1. Condicionamiento de Preferencia de Lugar.

Los resultados obtenidos se pueden ver en la figura 30.

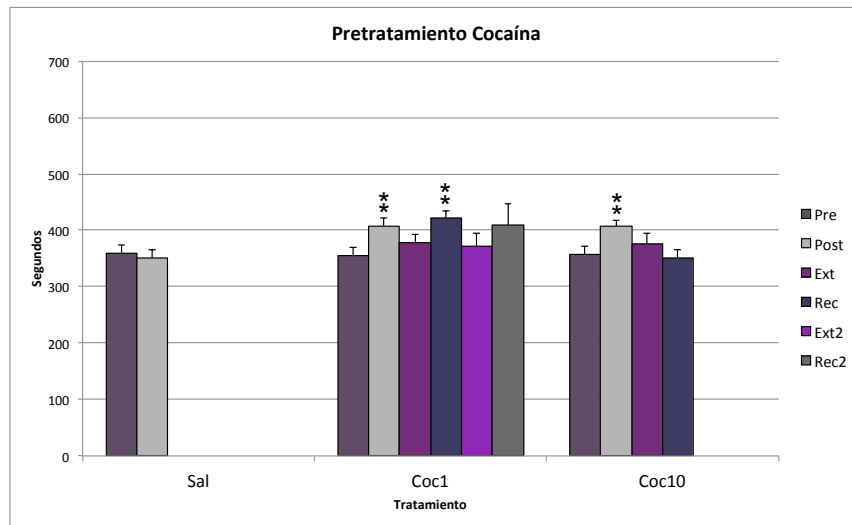


Figura 30: Adquisición del CPL inducido por 1.25 mg/kg de MDMA después de un pretratamiento con cocaína. Las barras representan la media (\pm SEM) del tiempo pasado en el compartimento asociado con el fármaco en el Pre-C (morado), Post-C (gris), Extinción (fucsia) o Reinstauración (azul). Los grupos son: Pretratamiento con Salino - Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Sal; n=12), Pretratamiento con Cocaína 1 mg/kg - Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Coc 1; n= 11), Pretratamiento con Cocaína 10 mg/kg - Cond. MDMA 1.25 mg/kg (Coc 10; n=12). Diferencias significativas respecto al Pre-C ** $p < 0.01$.

El ANOVA con todos los grupos, mostró un efecto significativo de las variables “Días” [$F(1,32)=8.252$; $p < 0.01$] y de la interacción “Días x Pretratamiento” [$F(2,32)=3.708$; $p < 0.05$], pero no de la variable “Pretratamiento” [$F(2,32)=2.137$; $p=0.135$]. Las

comparaciones post-hoc mostraron que los grupos que recibieron cocaína en el pretratamiento mostraron mayores tiempos de permanencia en el compartimento asociado el día del Post-C, en comparación con el grupo que recibió salino en el pretratamiento ($p < 0.05$), así como en comparación con los valores que presentaron en el Pre-C ($p < 0.01$).

El ANOVA con todos los grupos que recibieron cocaína en el pretratamiento y que presentaron CPL en el Post-C, mostró un efecto significativo de la variable "Días" [$F(3,60)=6.763$; $p < 0.01$] y de la interacción "Días x Pretratamiento" [$F(3,60)=3.970$; $p < 0.05$], pero no de la variable "Pretratamiento" [$F(1,20)=1.584$; $p = 0.223$]. Las comparaciones post-hoc mostraron diferencias entre ambos grupos en la reinstauración ($p < 0.05$). Sólo los animales que recibieron 1 mg/kg de cocaína en el pretratamiento, pasaron un tiempo significativamente mayor en el compartimento asociado con la MDMA en el test de reinstauración, en comparación con el tiempo pasado en el Pre-C ($p < 0.01$).

El ANOVA con el grupo que recibió 1 mg/kg de cocaína en el pretratamiento para el Pre-C, Post-C, Extinción, Reinstauración, Extinción2 y Reinstauración2 mostró un efecto significativo de las variables "Días" [$F(5,6)=4.561$; $p < 0.05$]. Las comparaciones post-hoc no mostraron diferencias en el tiempo pasado en el compartimento asociado, entre el Pre-C y el 2º test de reinstauración ($p = 1,00$).

Estudio 4.

11.3.2.2. Análisis de monoaminas cerebrales.

Los resultados obtenidos pueden observarse en la tabla 10.

		Sal-M1.25	Coc1-M1.125	Coc10-M1.125
Estriado	DA	17952 ± 1035	15890 ± 965	14987 ± 561*
	DOPAC	1438 ± 224	1478 ± 120	1395 ± 117
	HVA	1100 ± 106	900 ± 102	912 ± 100
	DA turnover	.0782 ± .0092	.093 ± .0041	.0932 ± .0075
	5-HT	1080 ± 77	969 ± 95	1000 ± 64
	5-HIAA	247 ± 19	251 ± 31	264 ± 18
	5-HT turnover	.2298 ± .0145	.2582 ± .0144	.2658 ± .0136
C. Frontal	5-HT	769 ± 46	914 ± 41*	790 ± 59
	5-HIAA	99 ± 8	105 ± 17	98 ± 7
	5-HT turnover	.1312 ± .0142	.11360 ± .0142	.1245 ± .0051
Hipocampo	5-HT	566 ± 78	555 ± 79	421 ± 39
	5-HIAA	196 ± 22	172 ± 15	155 ± 22
	5-HT turnover	.359 ± .0404	.3224 ± .0316	.3612 ± .0207

Tabla 10: Concentración de monoaminas en estriado, córtex frontal e hipocampo de animales pretratados con salino (Sal-M1.25), Cocaína 1 mg/kg (Coc1-M1.125) o Cocaína 10 mg/kg (Coc10-M1.125) y posteriormente condicionados con MDMA 1.25 mg/kg. Los datos se presentan como media ± S.E.M. * p<0.05.

El ANOVA mostró un efecto significativo de la variable "Pretratamiento" en las concentraciones de DA en el estriado [$F(2,16)=5.040$; $p<0.05$], mostrando los animales pretratados con 10 mg/kg de Cocaína menores niveles de DA que los animales pretratados con salino ($p<0.05$). El pretratamiento también afectó a los niveles de 5-HT en la corteza frontal [$F(2,16)=4.700$; $p<0.05$], presentando los animales pretratados con 1 mg/kg de Cocaína mayores niveles de 5-HT que los animales pretratados con salino ($p<0.05$).

11.4. Discusión.

Nuestros resultados indican que la cocaína puede potenciar el efecto recompensante de la MDMA. Así, la administración conjunta de una dosis de MDMA que por sí misma no es capaz de inducir CPL, junto con cualquiera de las dos dosis de cocaína empleadas en este trabajo, induce CPL en ratones adolescentes. La dosis de 1 mg/kg de cocaína por sí misma tampoco es capaz de producir un CPL en nuestros animales, como hemos observado previamente (Maldonado et al., 2006) aunque la dosis de 10 mg/kg sí que puede resultar efectiva (Ribeiro Do Couto y cols., 2009). Además, un pretratamiento con cualquiera de las dos dosis de cocaína empleadas facilita la adquisición de un CPL inducido mediante una dosis de 1.25 mg/kg de MDMA. En el caso de los animales que recibieron el pretratamiento con la dosis baja de cocaína (1 mg/kg), además mostraron la reinstauración de la preferencia previamente extinguida tras la administración de 0.625 mg/kg de MDMA. El pretratamiento con cocaína produce algunas alteraciones en las concentraciones de monoaminas cerebrales, presentando los animales pretratados con 1 mg/kg de cocaína un incremento en la 5-HT hipocámpal así como un descenso en las concentraciones estriatales de DA en ambos grupos pretratados con cocaína, siendo este efecto significativo en el caso de los animales pretratados con la dosis de 10 mg/kg de cocaína.

Los estudios de CPL en ratones habitualmente emplean dosis de MDMA en un rango entre 5 y 10 mg/kg (Salzmann y cols., 2003; Daza-Losada y cols., 2007, 2009, 2011; Marie-Claire y cols., 2008), no observándose efectos generalmente con dosis por debajo de 3 mg/kg (Robledo y cols., 2004a, 2007), aunque Chen y cols. (2008) observaron CPL con una dosis de 1.5 mg/kg. Como hemos observado previamente, la dosis de 1.25 mg/kg de MDMA no induce CPL en nuestras condiciones experimentales (Daza-Losada y cols., 2009; Ribeiro Do Couto y cols., 2011b). En estos estudios un pretratamiento con MDMA o con alcohol durante la adolescencia facilitó la adquisición del CPL inducido por MDMA. También observamos que un pretratamiento con 25 mg/kg de cocaína no facilitó la adquisición del CPL con una dosis de MDMA subumbral, aunque el tiempo requerido para extinguir el CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA fue mayor en los animales pretratados con cocaína, y la preferencia se reinstauró con dosis progresivamente menores en los

Estudio 4.

grupos pretratados con cocaína o MDMA (Daza-Losada y cols., 2009). En el presente trabajo hemos observado como un pretratamiento con dosis mucho menores de cocaína facilita la adquisición del CPL inducido por 1.25 mg/kg de MDMA. Además, los grupos pretratados con 1 mg/kg de cocaína muestran una reinstauración de la preferencia inducida por 1.25 mg/kg de MDMA con una dosis muy baja (0.625 mg/kg), lo que sólo ocurrió en el trabajo de Daza-Losada y cols. (2009) en los grupos condicionados con 10 mg/kg de MDMA. Estas diferencias pueden deberse a que en el trabajo de Daza-Losada y cols. (2009) el pretratamiento administrado fue diferente y el tiempo transcurrido desde el pretratamiento hasta el inicio del condicionamiento fue de 3 semanas, siendo los animales adultos cuando realizaron el condicionamiento, mientras que en el presente trabajo el tiempo transcurrido ha sido menor (6 días) y los animales eran por tanto adolescentes en el momento del condicionamiento (PND 36 a 43). De acuerdo con esto, Aberg y cols. (2007) observaron cómo una dosis de 10 mg/kg de cocaína no produjo CPL en ratas adolescentes controles, mientras que las que habían recibido un pretratamiento con MDMA mostraron preferencia con esta misma dosis de cocaína. Por el contrario, el CPL inducido por cocaína se redujo tras el pretratamiento con MDMA en las ratas adultas. En este mismo sentido, otros autores han observado que los ratones adolescentes muestran una mayor sensibilidad a la cocaína que los ratones adultos (Schramm-Sapyta y cols., 2004).

Diller y cols. (2007) estudiaron el efecto de la administración conjunta de MDMA (0, 5 y 10 mg/kg) con cocaína (0, 2.5 y 5 mg/kg) en el CPL con ratas adultas. Estos investigadores encontraron que la dosis de MDMA de 5 mg/kg inducía un CPL el cual se reducía conforme se incrementaba la dosis de cocaína. Sin embargo, con la dosis de 10 mg/kg de MDMA no observaron CPL, aunque conforme se incrementó la dosis de cocaína, la preferencia condicionada se incrementó de forma paralela. Así, nuestros datos serían similares a lo que estos autores encontraron con la dosis de 10 mg/kg de MDMA, aunque en nuestro caso, la dosis empleada es mucho menor, y los animales empleados son diferentes ya que Diller y cols. (2007) emplean ratas adultas y en nuestro caso se trata de ratones adolescentes. Quizá estas diferentes características de los animales, en especial, la edad a la que reciben el

tratamiento contribuya a explicar las diferencias observadas en el caso de la dosis de 5 mg/kg de MDMA.

La liberación de DA producida por la administración simultánea de MDMA y cocaína puede haber tenido un efecto sinérgico en la liberación de DA estriatal, aunque esto no haya producido consecuencias observables en el momento de la obtención de las muestras, que se produjo 24 horas después de la última administración de los fármacos, en el momento correspondiente al test (Post-C). El incremento en las concentraciones de DA probablemente ocurre por la acción aguda conjunta de ambas drogas en las sesiones de condicionamiento (la cocaína inhibiendo el DAT y la MDMA favoreciendo la liberación de DA por mecanismos dependientes del Ca^{2+}), cuando los animales están estableciendo la asociación con el ambiente distintivo asociado a estas drogas.

De acuerdo con nuestros resultados, Schenk y cols. (2003) han observado que la pre-exposición a cocaína reduce la latencia de adquisición de la AA de MDMA en ratas. De forma similar, un pretratamiento con cocaína seguido de un periodo de abstinencia potencia la liberación de DA y la estimulación motora producidas por MDMA, medidas que podrían ser indicativas de un incremento en los efectos recompensantes de la MDMA (Peraile y cols., 2010). El hecho de que la reinstauración se produzca con dosis inferiores a la empleada en el condicionamiento sugiere que la sensibilización contribuye a la reinstauración inducida por la droga (De Vries y cols., 1998, 2002).

La sensibilización conductual se caracteriza por el incremento progresivo en la actividad motora o de los efectos reforzantes de las drogas, y se piensa que puede ser indicativa de su capacidad adictiva o del *craving* que inducen (Kalivas y cols., 1998; Robinson y Berridge, 2008; Stekettee y Kalivas, 2011). La sensibilización se asocia con una mayor respuesta dopaminérgica en el ATV y N. Acc. (Pettit y cols., 1990; Kalivas y Duffy 1993; Heidbreder y cols., 1996; Kalivas y cols., 1998; Nakagawa y cols., 2011) y con una alteración en la modulación de la transmisión glutamatérgica de la vía mesocorticolímbica a nivel de la CPF (Liu y Stekettee, 2011). La DA actúa de forma inhibitoria en el output glutamatérgico de la CPF activando los receptores D_2 de las neuronas piramidales glutamatérgicas y en las interneuronas

GABAérgicas (Grobin y Deutch, 1998; Seamans y Yang, 2004). La sensibilización a la cocaína se asocia con un menor funcionamiento de los receptores D_2 en la CPFm, lo que produce una mayor transmisión excitatoria al N. Acc y ATV en respuesta a la cocaína (Nogueira y cols., 2006; Liu y Steketee, 2011). En este sentido, Peraile y cols. (2010) observaron sensibilización conductual y neuroquímica (incremento en la liberación de DA inducida por la MDMA) tras un pretratamiento con cocaína, de forma que la liberación estriatal de DA producida por la administración de MDMA (300% más que la administración de salino) se da de una forma más pronunciada en los ratones que fueron pretratados con cocaína y finalizaron este tratamiento 4 días antes de la administración de MDMA (600% más que la administración de salino). Sin embargo, estos autores observan, de acuerdo con nuestros resultados, un descenso en los niveles basales de DA estriatal en los animales que habían recibido un pretratamiento con cocaína, sin que éste afectara a los niveles basales de DOPAC o HVA. De forma similar, Chefer y Shippenberg (2002) observan menores niveles de DA basal, junto con una mayor respuesta dopaminérgica a la cocaína en animales que presentan sensibilización. Así, podría ocurrir que nuestros animales hubiesen experimentado una potenciación de la respuesta dopaminérgica ante la administración de MDMA en el condicionamiento, lo que contribuiría a producir un mayor efecto motivacional, favoreciendo así el establecimiento del CPL. Además, un tiempo después de un tratamiento con cocaína se observa un descenso en la expresión del DAT (Sharpe y cols., 1991; Kuhar y Pilotte, 1996; Chefer y Shippenberg, 2002; Peraile y cols., 2010) lo que podría contribuir igualmente a los resultados observados, que no se podrían explicar por una acción prolongada de la cocaína, ya que tanto ésta como sus metabolitos son eliminados rápidamente del cuerpo (Benuck y cols., 1987). Este descenso podría reflejar una respuesta adaptativa ante un estado dopaminérgico deficiente, caracterizado por unos niveles basales de DA menores (Parsons y cols., 1991; Chefer y Shippenberg, 2002; Peraile y cols., 2010). De acuerdo con esto en este estudio hemos observado un descenso en la DA estriatal que llega a ser significativo en los animales pretratados con 10 mg/kg de cocaína. Esta regulación a la baja del sistema cerebral de recompensa, podría provocar que sólo los estímulos más potentes como son las drogas, resultaran efectivos para activar estos circuitos, incrementando la susceptibilidad a su consumo (Volkow y cols., 2004). Por otra parte, los animales pretratados con 1

mg/kg de cocaína muestran un incremento en la 5-HT hipocampal, que podría favorecer el recuerdo de la asociación aprendida en las sesiones de condicionamiento (Steckler y Sahgal, 1995).

En suma, nuestros resultados, señalan que el consumo de cocaína puede potenciar el efecto reforzante de dosis bajas de MDMA, y confirman la implicación del sistema dopaminérgico en la mediación del efecto recompensante de la MDMA en ratones adolescentes.

Discusión general



En general, los resultados obtenidos indican que los mecanismos neurobiológicos que controlan la adquisición, la expresión y la reinstauración del CPL inducido por MDMA difieren entre sí. El sistema serotoninérgico está implicado en la adquisición, la expresión y la reinstauración del CPL inducido por MDMA. Por su parte, el sistema dopaminérgico está implicado en la adquisición y la expresión del CPL inducido por MDMA, pero no parece críticamente implicado en la reinstauración del CPL en ratones adolescentes.

De acuerdo con trabajos previos, la administración de 10 mg/kg de MDMA induce un CPL en ratones adolescentes (Daza-Losada y cols., 2007, 2009, 2011; Rodríguez-Arias y cols., 2010; Ribeiro Do Couto y cols., 2011a). Este protocolo experimental no induce alteraciones en las concentraciones de DA o 5-HT, ni alteraciones en las concentraciones de DAT o SERT, aunque produce un descenso en las concentraciones de 5-HIAA en el estriado, como habíamos observado previamente (Daza-Losada y cols., 2007).

Con excepción de la dosis alta (0.25 g/kg) de SCH 23390 que induce un efecto aversivo, y la dosis de 10 mg/kg de cocaína que puede inducir CPL (Ribeiro Do Couto y cols., 2009), los antagonistas serotoninérgicos y dopaminérgicos que hemos utilizado así como la fluoxetina y la cocaína no producen por sí mismos efectos motivacionales a las dosis empleadas, por lo que sus efectos sobre el CPL inducido por MDMA no se deben al efecto motivacional propio del fármaco.

Para evaluar los efectos de un compuesto en la adquisición del CPL inducido por MDMA, el fármaco estudiado debe administrarse durante la fase de adquisición (en combinación con la MDMA) antes de cada sesión de condicionamiento. Si durante el Post-C no se observa CPL, se asume que el compuesto experimental ha bloqueado la adquisición del CPL. En el estudio sobre el bloqueo del sistema serotoninérgico hemos comprobado que los receptores 5HT₃ participan en la adquisición del CPL inducido por MDMA, ya que la administración de MDL 72222 antes del MDMA durante la fase de condicionamiento impide el establecimiento del CPL. De acuerdo con nuestros resultados otros autores han portado evidencias en este sentido (Bilsky y Reid, 1991; Braida y cols., 2005). Sin embargo, los receptores 5HT_{1/2} parecen tener una menor implicación en este proceso, ya que la metergolina y la dosis baja

de risperidona no afectan a la adquisición del CPL inducido por MDMA. Así, nuestros resultados parecen indicar que los efectos observados tras la administración de la dosis alta de risperidona están más relacionados con el bloqueo de los receptores D_2 que con el bloqueo de los receptores 5-HT₂. De acuerdo con esto, en el estudio 3 encontramos resultados en este sentido, de forma que las dosis altas de raclopride (0.6 mg/kg) y de haloperidol (0.2 mg/kg), administradas en las sesiones de condicionamiento en combinación con el MDMA, bloquean la adquisición del CPL. Igualmente, en este estudio hemos comprobado que la liberación de DA y la estimulación de los receptores D_1 es también necesaria para la adquisición del CPL inducido por MDMA. De esta manera, tanto si bloqueamos los receptores D_1 mediante la administración de SCH 23390, los receptores D_2 mediante el Raclopride, ambas familias de receptores mediante el haloperidol, o bien impedimos la liberación de DA mediante la administración del CGS 10746B durante la fase de condicionamiento, se dificulta el establecimiento del CPL inducido por MDMA.

En todos los grupos en los que se bloquea la adquisición del CPL inducido por MDMA, sea mediante la administración de antagonistas serotoninérgicos, dopaminérgicos, mixtos o mediante el inhibidor de la liberación de DA hemos observado un incremento en la DA el día del Post-C, junto con un descenso del DOPAC, por lo que pensamos que este efecto puede contribuir a explicar el mencionado efecto de bloqueo de la adquisición del CPL. Además, los antagonistas serotoninérgicos incrementan la concentración del DAT, lo que junto con las alteraciones en la DA y el DOPAC puede contribuir también a explicar por qué estos fármacos bloquean la adquisición del CPL inducido por MDMA.

Aunque la expresión del SERT no se modifica con el tratamiento empleado en el condicionamiento con 10 mg/kg de MDMA, en todos los grupos tratados con MDMA se observa una tendencia hacia el incremento en su expresión. En los grupos tratados con CGS 10746B, Haloperidol o MDL 72222 esta tendencia se incrementa hasta la significación, probablemente como una respuesta adaptativa ante el bloqueo de los receptores dopaminérgicos o serotoninérgicos, respectivamente. Sin embargo, no parece que estas alteraciones en la expresión del SERT estén relacionadas con el bloqueo de la adquisición del CPL inducido por MDMA.

La dosis de 1.25 mg/kg es una dosis subumbral que por sí misma no es capaz de inducir CPL en animales controles (Daza-Losada y cols., 2009; Manzanedo y cols., 2010; Rodríguez-Arias y cols., 2010; Ribeiro Do Couto y cols., 2011b). Sin embargo, la inhibición de la recaptación de serotonina con fluoxetina o la inhibición de la recaptación de dopamina con cocaína, potencia los efectos reforzantes de la MDMA. En la fase de adquisición del condicionamiento, la administración de fluoxetina o cocaína en combinación con una dosis inefectiva de MDMA induce CPL. Asimismo, esta dosis subumbral de MDMA es efectiva para inducir CPL en animales que han recibido un pretratamiento con fluoxetina o con cocaína varios días antes del condicionamiento.

La combinación de fluoxetina y MDMA produce una disminución en la concentración de 5-HIAA y de la tasa de recambio de 5-HT en el estriado junto con una reducción de los niveles de 5-HT en el hipocampo. Estos cambios pueden ser consecuencia del incremento en la serotonina disponible durante los días de condicionamiento. Los resultados conductuales obtenidos en el CPL sugieren que un incremento en los niveles de serotonina durante el condicionamiento puede potenciar los efectos reforzantes de la MDMA. Además, el pretratamiento con fluoxetina disminuye los niveles estriatales de DOPAC, HVA y de la tasa de recambio de DA, junto con un incremento de la tasa de recambio de 5-HT estriatal y de la 5-HT en el córtex frontal. Estos resultados pueden deberse a cambios compensatorios al efecto de la fluoxetina, que pueden haber influido en la potenciación del efecto reforzante de la MDMA. En este sentido, la inhibición en el metabolismo de la serotonina y de la dopamina provocado por la fluoxetina puede contribuir a explicar la potenciación en el efecto reforzante de la MDMA.

Los animales pretratados con 1 mg/kg de cocaína muestran un incremento en la 5-HT hipocampal así como un descenso en las concentraciones estriatales de DA en ambos grupos pretratados con cocaína. A pesar de mostrar este descenso en las concentraciones estriatales de DA, es posible que nuestros animales presenten una mayor respuesta dopaminérgica en respuesta a la MDMA, lo que explicaría la potenciación del efecto recompensante. En este sentido, trabajos previos han observado menores niveles de DA basal en el estriado junto con una mayor respuesta dopaminérgica a la MDMA o a la cocaína en animales con sensibilización

tras un pretratamiento con cocaína (Chefer y Shippenberg, 2002; Peraile y cols., 2010).

El procedimiento de CPL permite distinguir el efecto de los fármacos sobre la adquisición versus la expresión del aprendizaje. La adquisición tiene lugar durante las sesiones de condicionamiento, cuando se produce la asociación, mientras que la expresión se evalúa el día después de la última sesión de condicionamiento. Para evaluar el efecto de un fármaco en la expresión del CPL, éste debe administrarse sólo el día del test tras haberse realizado el condicionamiento sólo con MDMA. Si durante el Post-C no se observa CPL, el fármaco ha bloqueado la expresión del CPL. Así, nuestros datos indican que los receptores 5HT₂ y D₂ están implicados en la expresión del CPL inducido por MDMA, ya que las dos dosis de risperidona empleadas la bloquean. El papel de los receptores 5HT₂ parece más claro, ya que tanto la dosis baja de metergolina como ambas dosis de risperidona tienen este efecto. Además, otros trabajos han ofrecido resultados similares. Por ejemplo, el bloqueo de los receptores 5-HT₂ también reduce la expresión del CPL inducido por cocaína (Rademacher y cols., 2000). Respecto al efecto de la risperidona, nuestros resultados sugieren que el antagonismo de los receptores 5-HT₂ puede ser suficiente para bloquear la expresión del CPL inducido por MDMA, aunque este efecto puede verse facilitado por el bloqueo simultáneo de los receptores D₂. En este sentido, en el estudio 3 hemos observado que el bloqueo selectivo de los receptores D₂ no es suficiente para bloquear la expresión del CPL inducido por MDMA, ya que el raclopride no tiene efectos. Así, hemos comprobado que el bloqueo específico de los receptores D₁ o D₂, o la inhibición de la liberación de DA no afecta la expresión. Se requiere el bloqueo simultáneo de los receptores D₁ y D₂ para impedir la expresión, ya que este efecto sólo se observa cuando administramos haloperidol, un antagonista dopaminérgico no selectivo que bloquea ambos tipos de receptores DA. Además, otros estudios demuestran igualmente el requerimiento de un antagonismo simultáneo de los receptores D₁ y D₂/D₃ para bloquear la expresión de un CPL inducido por cocaína (Lawley y Kantak 1990; Liao y cols., 1998; Adams y cols., 2001). Por otra parte, el papel de los receptores 5HT₃ no parece crítico para la expresión del CPL inducido por MDMA, ya que ninguna de las dosis de MDL 72222

empleadas la modifica. Se han obtenido resultados similares con cocaína; así, el MDL 72222, a pesar de deteriorar la adquisición del CPL inducido por cocaína, no afecta a su expresión (Kankaanpää y cols., 2002).

En cuanto a los efectos bioquímicos de los tratamientos empleados, pensamos que el incremento en las concentraciones de DOPAC y HVA que producen la risperidona y el haloperidol puede contribuir a explicar el bloqueo en la expresión del CPL, ya que todos los grupos en los que se ha bloqueado la expresión comparten esta característica. El incremento en la expresión del DAT que produce la administración de metergolina y la risperidona puede también contribuir a explicar por qué estos fármacos bloquean la expresión del CPL inducido por MDMA. Podemos hipotetizar que la metergolina y la risperidona interferirían con la expresión del CPL inducido por MDMA acelerando el metabolismo de la DA y, por tanto, provocando que la DA liberada en respuesta al ambiente asociado con la MDMA fuera efectiva durante menos tiempo.

Los recuerdos de las asociaciones realizadas entre las claves ambientales y las propiedades recompensantes de las drogas son difíciles de extinguir y contribuyen de forma significativa a la elevada propensión a las recaídas (Kalivas y Volkow, 2005; Hyman y cols., 2006; Kauer y Malenka, 2007; Kalivas y O'Brien, 2008). De acuerdo con observaciones anteriores, hemos confirmado que el CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA puede reinstaurarse tras su extinción, mediante la administración de una dosis priming de 5 mg/kg de MDMA (Daza-Losada y cols., 2007, 2009; Rodríguez-Arias y cols., 2010; Ribeiro do Couto, 2011a).

Los receptores 5HT₃ parecen implicados en este proceso, ya que la dosis menor de MDL 72222 bloquea la reinstauración inducida por 5 mg/kg de MDMA. Además, algún subtipo concreto de receptor 5-HT₂ (probablemente los 5-HT_{2A}) puede estar implicado en la reinstauración del CPL inducido por MDMA ya que dicha reinstauración es bloqueada por una dosis baja de metergolina, mientras que una dosis más alta de metergolina o la risperidona no tienen este efecto. Es posible que la dosis baja de metergolina produzca un bloqueo preferente de los receptores 5-HT_{2A}, un efecto implicado en la atenuación de la reinstauración del CPL inducido por MDMA (Orejarena y cols., 2011). Igualmente los receptores 5-HT_{2A}, han sido

implicados en la reinstauración de la búsqueda de cocaína inducida por la re-exposición a la droga y por señales ambientales asociadas a su AA (Fletcher y cols., 2002; Filip, 2005; Nic Dhonnchadha y cols., 2009; Pockros y cols., 2011). Por el contrario, dosis más altas de metergolina también bloquearían otros receptores como los 5-HT₁ y 5-HT_{2C} lo que modificaría el efecto en los animales, observándose la reinstauración del CPL tras el priming con MDMA.

No hemos encontrado evidencias de la implicación de la neurotransmisión dopaminérgica en la reinstauración del CPL inducido por MDMA, ya que ninguno de los antagonistas dopaminérgicos empleados ni la inhibición de la liberación de DA, ha sido capaz de bloquear la reinstauración inducida por MDMA. Por el contrario, en un informe reciente, Schenk y cols. (2011) observaron que un pretratamiento con el antagonista D₂ eticlopride disminuyó la reinstauración de la AA de MDMA. Como se ha comentado previamente, los paradigmas de AA y CPL evalúan aspectos diferentes del refuerzo, y de esta forma, características diferentes de la recaída y de la conducta adictiva.

La administración de una dosis de 5 mg/kg de MDMA produce un incremento en la DA junto con un descenso en la concentración de DOPAC, observándose un efecto similar tras la administración de los antagonistas serotoninérgicos que bloquearon la reinstauración, por lo que este efecto no parece contribuir a su efecto deteriorante sobre la reinstauración. Por otra parte, los antagonistas serotoninérgicos que bloquean la reinstauración también producen un incremento en los niveles de 5-HT estriatal, lo que sí podría contribuir al bloqueo de la reinstauración.

Como habíamos observado previamente, la dosis de 1.25 mg/kg no es efectiva para reinstaurar la preferencia del CPL inducido por MDMA previamente extinguida (Daza-Losada y cols., 2011). Además, hemos comprobado como con nuestras condiciones experimentales, la administración de fluoxetina no induce reinstauración cruzada del CPL inducido por MDMA. Sin embargo, la administración de fluoxetina (10 mg/kg) potencia el efecto reinstaurador de una dosis subumbral de MDMA tras la extinción del condicionamiento. En este mismo sentido, animales que han recibido un pretratamiento con una dosis baja de cocaína (1 mg/kg) reinstauran la preferencia condicionada por MDMA previamente extinguida tras la administración de una dosis

de 0.625 mg/kg de MDMA. Estos resultados sugieren que tanto un incremento en los niveles de serotonina como de dopamina puede contribuir a una potenciación del efecto reforzante del MDMA. De acuerdo con nuestros resultados, Hagino y cols. (2011) han observado un incremento en la DA estriatal en respuesta a la MDMA en ratones KO para el DAT o para el SERT, aunque no en ratones KO para ambos transportadores, indicando que la activación del SERT o del DAT es suficiente para que se produzca la liberación de DA y con ello los efectos reforzantes.

La administración de fluoxetina produce un incremento en la 5-HT en el córtex frontal junto con un descenso en el 5-HIAA y de la tasa de recambio de 5-HT en el córtex frontal y en el hipocampo. La mayor disponibilidad de 5-HT debido a la inhibición de la recaptación junto con la inhibición de su metabolismo puede contribuir a explicar la potenciación del efecto reinstaurador de la fluoxetina. Así, el incremento en la disponibilidad de serotonina, especialmente en el córtex frontal, aunque también en otras regiones como el hipocampo o el estriado puede contribuir al mayor efecto reforzante de una dosis subumbral de MDMA.

En futuros trabajos sería interesante estudiar el efecto de manipulaciones farmacológicas combinadas de los sistemas dopaminérgico, serotoninérgico, glutamatérgico y cannabinoide, lo que sería de gran ayuda en el diseño terapias farmacológicas adecuadas para los consumidores de éxtasis que desarrollan dependencia o están preocupados por su consumo.

Conclusiones



- La administración de 10 mg/kg de MDMA induce un CPL en ratones adolescentes, mientras que la dosis de 1.25 mg/kg es una dosis subumbral que por sí misma no es capaz de inducir CPL en animales controles.
- El tratamiento empleado en nuestro protocolo experimental para el condicionamiento con 10 mg/kg de MDMA no induce alteraciones en las concentraciones de DA o 5-HT, ni en las concentraciones de DAT o SERT, aunque produce un descenso en las concentraciones de 5-HIAA en el estriado.
- Los antagonistas serotoninérgicos y dopaminérgicos que hemos utilizado así como la fluoxetina y la cocaína no producen por sí mismos efectos motivacionales a las dosis empleadas, con excepción de la dosis alta de SCH 23390 que induce un efecto aversivo, y la dosis alta de cocaína que puede inducir CPL.
- El bloqueo de los receptores 5-HT₃, 5-HT₂/D₂, D₁ o D₂, así como la inhibición de la liberación de DA interfiere con la adquisición del CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA. Por el contrario, la inhibición de la recaptación de 5-HT, mediante la administración de fluoxetina, o de DA, mediante la administración de cocaína, potencia los efectos reforzantes de una dosis subumbral de MDMA.
- El incremento en la DA junto con el descenso del DOPAC producido por los antagonistas serotoninérgicos y dopaminérgicos, así como el incremento en la concentración del DAT que producen los antagonistas serotoninérgicos, puede contribuir a explicar por qué estos fármacos bloquean la adquisición del CPL inducido por MDMA.
- La combinación de fluoxetina y MDMA produce una inhibición en el metabolismo de la 5-HT y de la DA que puede deberse a cambios compensatorios por el efecto de la fluoxetina. Ésta podría haber incrementado los niveles de 5-HT durante el condicionamiento, lo que explicaría el efecto reforzante de la MDMA.

Conclusiones.

- El antagonismo simultáneo de los receptores 5-HT₂/D₂ y de los receptores D₁/D₂ bloquean la expresión del CPL inducido por MDMA.
- El incremento en la expresión del DAT que produce la administración de metergolina y la risperidona, así como el incremento en las concentraciones de DOPAC y HVA que producen la risperidona y el haloperidol puede contribuir a explicar el bloqueo en la expresión del CPL inducido por MDMA que producen estos fármacos.
- El CPL inducido por 10 mg/kg de MDMA puede reinstaurarse tras su extinción, mediante la administración de una dosis priming de 5 mg/kg de MDMA. Por el contrario, la dosis de 1.25 mg/kg no es suficiente para reinstaurar esta preferencia.
- El antagonismo de los receptores 5-HT₂ (probablemente los del subtipo 5-HT_{2A}) y 5-HT₃ bloquean la reinstauración provocada por la re-exposición a la droga del CPL inducido por MDMA. Ninguno de los antagonistas dopaminérgicos empleados afecta dicha reinstauración.
- La administración de una dosis de 5 mg/kg de MDMA produce un incremento en la DA junto con un descenso en la concentración de DOPAC. Los antagonistas serotoninérgicos que bloquearon la reinstauración, no modifican este efecto bioquímico de la MDMA excepto por un incremento en la 5-HT estriatal, lo que podría contribuir al bloqueo de la reinstauración que producen.
- La fluoxetina no induce reinstauración cruzada, pero potencia el efecto reinstaurador de una dosis subumbral de MDMA tras la extinción del condicionamiento. El incremento en la disponibilidad de 5-HT, especialmente en el córtex frontal, aunque también en otras regiones como el hipocampo o el estriado, puede contribuir al mayor efecto reforzante de una dosis subumbral de MDMA. Por otra parte, los animales que han recibido un pretratamiento con cocaína presentan CPL tras la administración de una dosis priming muy baja (0.625 mg/kg) de MDMA,

sugiriendo que la experiencia previa con cocaína produce un incremento en la vulnerabilidad a la reinstauración del CPL inducido por MDMA.

Bibliografía



- Aberg, M., Wade, D., Wall, E., & Izenwasser, S. (2007). Effect of MDMA (ecstasy) on activity and cocaine conditioned place preference in adult and adolescent rats. *Neurotoxicology and teratology*, 29(1), 37–46.
- Able, J. A., Gudelsky, Gary A, Vorhees, Charles V, & Williams, M. T. (2006). 3,4-Methylenedioxymethamphetamine in adult rats produces deficits in path integration and spatial reference memory. *Biological psychiatry*, 59(12), 1219–1226.
- Achat-Mendes, C. N., Anderson, K L, & Itzhak, Y. (2003). Methylphenidate and MDMA adolescent exposure in mice: long-lasting consequences on cocaine-induced reward and psychomotor stimulation in adulthood. *Neuropharmacology*, 45(1), 106–115.
- Achat-Mendes, C., Ali, Syed F, & Itzhak, Y. (2005). Differential effects of amphetamines-induced neurotoxicity on appetitive and aversive Pavlovian conditioning in mice. *Neuropsychopharmacology*, 30(6), 1128–1137.
- Acosta, J. I., Boynton, F. A., Kirschner, K. F., & Neisewander, J. L. (2005). Stimulation of 5-HT1B receptors decreases cocaine- and sucrose-seeking behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 80(2), 297–307.
- Acquas, E., Marrocu, P., Pisanu, A., Cadoni, C., Zernig, G., Saria, A., & Di Chiara, G. (2001). Intravenous administration of ecstasy (3,4-methylenedioxymethamphetamine) enhances cortical and striatal acetylcholine release in vivo. *European journal of pharmacology*, 418(3), 207–211.
- Acquas, E., & Di Chiara, G. (1994). D1 receptor blockade stereospecifically impairs the acquisition of drug-conditioned place preference and place aversion. *Behavioural pharmacology*, 5(6), 555–569.
- Acquas, E., Carboni, E., Garau, L., & Di Chiara, G. (1990). Blockade of acquisition of drug-conditioned place aversion by 5HT3 antagonists. *Psychopharmacology*, 100(4), 459–463.
- Acquas, E., Carboni, E., Leone, P., & Di Chiara, G. (1989). SCH 23390 blocks drug-conditioned place-preference and place-aversion: anhedonia (lack of reward) or apathy (lack of motivation) after dopamine-receptor blockade. *Psychopharmacology*, 99(2), 151–155.
- Adams, J. U., Careri, J. M., Efferen, T. R., & Rotrosen, J. (2001). Differential effects of dopamine antagonists on locomotor activity, conditioned activity and conditioned place preference induced by cocaine in rats. *Behavioural pharmacology*, 12(8), 603–611.
- Adori, C., Ando, R. D., Kovács, Gábor G, & Bagdy, G. (2006). Damage of serotonergic axons and immunolocalization of Hsp27, Hsp72, and Hsp90 molecular chaperones after a single dose of MDMA administration in Dark Agouti rat: temporal, spatial, and cellular patterns. *The Journal of comparative neurology*, 497(2), 251–269.
- Aguilar, María A, Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, Jose. (2009). Neurobiological mechanisms of the reinstatement of drug-conditioned place preference. *Brain research reviews*, 59(2), 253–277.
- Aguirre, N, Ballaz, S., Lasheras, B., & Del Río, J. (1998). MDMA (“Ecstasy”) enhances 5-HT1A receptor density and 8-OH-DPAT-induced hypothermia: blockade by drugs preventing 5-hydroxytryptamine depletion. *European journal of pharmacology*, 346(2-3), 181–188.
- Aguirre, N, Barrionuevo, M., Ramírez, M. J., Del Río, J., & Lasheras, B. (1999). Alpha-lipoic acid prevents 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA)-induced neurotoxicity. *Neuroreport*, 10(17), 3675–3680.
- Ali, S F, Newport, G. D., Scallet, A. C., Binienda, Z., Ferguson, S. A., Bailey, J. R., Paule, M. G., et al. (1993). Oral administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) produces selective serotonergic depletion in the nonhuman primate. *Neurotoxicology and teratology*, 15(2), 91–96.

Bibliografia.

- Alleweireldt, A. T., Weber, S. M., Kirschner, K. F., Bullock, B. L., & Neisewander, J. L. (2002). Blockade or stimulation of D1 dopamine receptors attenuates cue reinstatement of extinguished cocaine-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology*, 159(3), 284–293.
- Allott, K. (2007). Are there sex differences associated with the effects of ecstasy/3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2007;31(3):327-47.
- Allott, K., Canny, B. K., Broadbear, J. H., Stepto, N. K., Murphy, B., & Redman, J. (2009). Neuroendocrine and subjective responses to pharmacological challenge with citalopram: a controlled study in male and female ecstasy/MDMA users. *Journal of Psychopharmacology*, 23(7), 759–774.
- Altar, C. A., Wasley, A. M., Liebman, J., Gerhardt, S., Kim, H., Welch, J. J., & Wood, P. L. (1986). CGS 10746B: an atypical antipsychotic candidate that selectively decreases dopamine release at behaviorally effective doses. *Life sciences*, 39(8), 699–705.
- Amato, J. L., Bankson, Michael G., & Yamamoto, Bryan K. (2007). Prior exposure to chronic stress and MDMA potentiates mesoaccumbens dopamine release mediated by the 5-HT(1B) receptor. *Neuropsychopharmacology*, 32(4), 946–954.
- Ameln, von, N., & Ameln-Mayerhofer, von, A. (2010). Atypical development of behavioural sensitization to 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, “Ecstasy”) in adolescent rats and its expression in adulthood: role of the MDMA chirality. *Addiction biology*, 15(1), 35–44.
- Andersen, S. (2003). Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2003;27(1-2):3-18.
- Anderson, Karen L, & Itzhak, Y. (2003). Inhibition of neuronal nitric oxide synthase suppresses the maintenance but not the induction of psychomotor sensitization to MDMA (“Ecstasy”) and p-chloroamphetamine in mice. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 9(1), 24–32.
- Ando, R. D., Benko, A., Ferrington, L., Kirilly, E., Kelly, P. A. T., & Bagdy, G. (2006). Partial lesion of the serotonergic system by a single dose of MDMA results in behavioural disinhibition and enhances acute MDMA-induced social behaviour on the social interaction test. *Neuropharmacology*, 50(7), 884–896.
- Anthony, J. C., & Petronis, K. R. (1995). Early-onset drug use and risk of later drug problems. *Drug and alcohol dependence*, 40(1), 9–15.
- Azmitia, E. C., Murphy, R. B., & Whitaker-Azmitia, P. M. (1990). MDMA (ecstasy) effects on cultured serotonergic neurons: evidence for Ca²⁺-dependent toxicity linked to release. *Brain research*, 510(1), 97–103.
- Badon, L. A., Hicks, A., Lord, K., Ogden, B. A., Meleg-Smith, S., & Varner, K. J. (2002). Changes in cardiovascular responsiveness and cardiotoxicity elicited during binge administration of Ecstasy. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 302(3), 898–907.
- Baker, L E, Broadbent, J., Michael, E. K., Matthews, P. K., Metosh, C. A., Saunders, R. B., West, W. B., et al. (1995). Assessment of the discriminative stimulus effects of the optical isomers of ecstasy (3,4-methylenedioxymethamphetamine; MDMA). *Behavioural pharmacology*, 6(3), 263–275.
- Baker, L E, & Taylor, M. M. (1997). Assessment of the MDA and MDMA optical isomers in a stimulant-hallucinogen discrimination. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 57(4), 737–748.
- Ball, Kevin T, & Rebec, George V. (2005). Role of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C/B} receptors in the acute effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on striatal single-unit activity and locomotion in freely moving rats. *Psychopharmacology*, 181(4), 676–687.

- Ball, Kevin T, Budreau, D., & Rebec, George V. (2003). Acute effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on striatal single-unit activity and behavior in freely moving rats: differential involvement of dopamine D(1) and D(2) receptors. *Brain research*, 994(2), 203–215.
- Ball, Kevin T, Budreau, D., & Rebec, George V. (2006). Context-dependent behavioural and neuronal sensitization in striatum to MDMA (ecstasy) administration in rats. *The European journal of neuroscience*, 24(1), 217–228.
- Ball, Kevin T, Walsh, K. M., & Rebec, George V. (2007). Reinstatement of MDMA (ecstasy) seeking by exposure to discrete drug-conditioned cues. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 87(4), 420–425.
- Ball, K T, Wellman, C. L., Fortenberry, E., & Rebec, G V. (2009). Sensitizing regimens of (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) elicit enduring and differential structural alterations in the brain motive circuit of the rat. *Neuroscience*, 160(2), 264–274.
- Balogh, B., Molnar, E., Jakus, R., Quate, L., Olverman, H. J., Kelly, P. A. T., Kantor, S., et al. (2004). Effects of a single dose of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on circadian patterns, motor activity and sleep in drug-naive rats and rats previously exposed to MDMA. *Psychopharmacology*, 173(3-4), 296–309.
- Banks, Matthew L, Sprague, J. E., Kisor, D. F., Czoty, P. W., Nichols, D. E., & Nader, M. A. (2007). Ambient temperature effects on 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced thermosregulation and pharmacokinetics in male monkeys. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 35(10), 1840–1845.
- Bankson, M G, & Cunningham, K A. (2001). 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) as a unique model of serotonin receptor function and serotonin-dopamine interactions. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 297(3), 846–852.
- Bankson, Michael G, & Cunningham, Kathryn A. (2002). Pharmacological studies of the acute effects of (+)-3,4-methylenedioxymethamphetamine on locomotor activity: role of 5-HT(1B/1D) and 5-HT(2) receptors. *Neuropsychopharmacology*, 26(1), 40–52.
- Bankson, Michael G, & Yamamoto, Bryan K. (2004). Serotonin-GABA interactions modulate MDMA-induced mesolimbic dopamine release. *Journal of neurochemistry*, 91(4), 852–859.
- Bardo, M. T., & Bevins, R. A. (2000). Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward. *Psychopharmacology*, 153(1), 31–43.
- Bardo, M. T., Rowlett, J. K., & Harris, M. J. (1995). Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: a meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 19(1), 39–51.
- Barenys, M., Gomez-Catalan, J., Camps, L., Teixido, E., de Lapuente, J., Gonzalez-Linares, J., Serret, J., et al. (2010). MDMA (ecstasy) delays pubertal development and alters sperm quality after developmental exposure in the rat. *Toxicology letters*, 197(2), 135–142.
- Barrett, P. J. (1992). Ecstasy and dantrolene. *BMJ (Clinical research ed)*, 305(6863), 1225.
- Barrionuevo, M., Aguirre, N, Del Río, J. D., & Lasheras, B. (2000). Serotonergic deficits and impaired passive-avoidance learning in rats by MDEA: a comparison with MDMA. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 65(2), 233–240.
- Battaglia, G., Brooks, B. P., Kulsakdinun, C., & De Souza, E. B. (1988a). Pharmacologic profile of MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine) at various brain recognition sites. *European journal of pharmacology*, 149(1-2), 159–163.
- Battaglia, G., Yeh, S. Y., & De Souza, E. B. (1988b). MDMA-induced neurotoxicity: parameters of degeneration and recovery of brain serotonin neurons. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 29(2), 269–274.

Bibliografia.

- Baumann, Michael H, Clark, R. D., Budzynski, A. G., Partilla, J. S., Blough, B. E., & Rothman, R. B. (2005). N-substituted piperazines abused by humans mimic the molecular mechanism of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, or "Ecstasy") Neuropsychopharmacology, 30(3), 550–560.
- Baumann, Michael H, Wang, Xiaoying, & Rothman, Richard B. (2007). 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) neurotoxicity in rats: a reappraisal of past and present findings. Psychopharmacology, 189(4), 407–424.
- Baylen, C. A., & Rosenberg, H. (2006). A review of the acute subjective effects of MDMA/ecstasy Addiction (Abingdon, England), 101(7), 933–947.
- Beardsley, P. M., Balster, R. L., & Harris, L. S. (1986). Self-administration of methylenedioxymethamphetamine (MDMA) by rhesus monkeys. Drug and alcohol dependence, 18(2), 149–157.
- Bedi, G., Phan, K. L., Angstadt, M., & De Wit, Harriet. (2009). Effects of MDMA on sociability and neural response to social threat and social reward. Psychopharmacology, 207(1), 73–83.
- Belin, D., Mar, A. C., Dalley, Jeffrey W, Robbins, Trevor W, & Everitt, Barry J. (2008). High impulsivity predicts the switch to compulsive cocaine-taking. Science, 320(5881), 1352–1355.
- Belkai, E., Scherrmann, J.-M., Noble, F., & Marie-Claire, C. (2009). Modulation of MDMA-induced behavioral and transcriptional effects by the delta opioid antagonist naltrexone in mice. Addiction biology, 14(3), 245–252.
- Bendotti, C., Baldessari, S., Pende, M., Tarizzo, G., Miari, A., Presti, M. L., Mennini, T., et al. (1994). Does GFAP mRNA and mitochondrial benzodiazepine receptor binding detect serotonergic neuronal degeneration in rat. Brain research bulletin, 34(4), 389–394.
- Bengel, D., Murphy, D. L., Andrews, A. M., Wichems, C. H., Feltner, D., Heils, A., Mössner, R., et al. (1998). Altered brain serotonin homeostasis and locomotor insensitivity to 3, 4-methylenedioxymethamphetamine ("Ecstasy") in serotonin transporter-deficient mice. Molecular pharmacology, 53(4), 649–655.
- Beninger, R. J. (1989). Dissociating the effects of altered dopaminergic function on performance and learning. Brain research bulletin, 23(4-5), 365–371.
- Beninger, R. J., Wirsching, B. A., Jhamandas, K., & Boegman, R. J. (1989). Animal studies of brain acetylcholine and memory. Archives of gerontology and geriatrics, 1, 71–89.
- Benturquia, N., Courtin, C., Noble, F., & Marie-Claire, C. (2008). Involvement of D1 dopamine receptor in MDMA-induced locomotor activity and striatal gene expression in mice. Brain research, 1211, 1–5.
- Benuck, M., Lajtha, A., & Reith, M. E. (1987). Pharmacokinetics of systemically administered cocaine and locomotor stimulation in mice. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 243(1), 144–149.
- Berger, U. V., Gu, X. F., & Azmitia, E. C. (1992). The substituted amphetamines 3,4-methylenedioxymethamphetamine, methamphetamine, p-chloroamphetamine and fenfluramine induce 5-hydroxytryptamine release via a common mechanism blocked by fluoxetine and cocaine. European journal of pharmacology, 215(2-3), 153–160.
- Bexis, Sotiria, & Docherty, James R. (2005). Role of alpha2A-adrenoceptors in the effects of MDMA on body temperature in the mouse. British Journal of Pharmacology, 146(1), 1–6.
- Bexis, S, & Docherty, J R. (2008). Role of alpha1-adrenoceptor subtypes in the effects of methylenedioxy methamphetamine (MDMA) on body temperature in the mouse. British Journal of Pharmacology, 153(3), 591–597.

- Bexis, Sotiria, & Docherty, James R. (2009). Role of alpha 1- and beta 3-adrenoceptors in the modulation by SR59230A of the effects of MDMA on body temperature in the mouse. *British Journal of Pharmacology*, 158(1), 259–266.
- Bhattachary, S., & Powell, J. H. (2001). Recreational use of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA) or "ecstasy": evidence for cognitive impairment. *Psychological medicine*, 31(4), 647–658.
- Biala, G., & Budzynska, B. (2008). Calcium-dependent mechanisms of the reinstatement of nicotine-conditioned place preference by drug priming in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 89(1), 116–125.
- Bilsky, E. J., & Reid, L. D. (1991). MDL72222, a serotonin 5-HT₃ receptor antagonist, blocks MDMA's ability to establish a conditioned place preference. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 39(2), 509–512.
- Bilsky, E. J., Hubbell, C. L., Delconte, J. D., & Reid, L. D. (1991). MDMA produces a conditioned place preference and elicits ejaculation in male rats: a modulatory role for the endogenous opioids. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 40(2), 443–447.
- Bilsky, E. J., Hui, Y. Z., Hubbell, C. L., & Reid, L. D. (1990). Methylenedioxyamphetamine's capacity to establish place preferences and modify intake of an alcoholic beverage. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 37(4), 633–638.
- Bilsky, E. J., Montegut, M. J., Nichols, M. L., & Reid, L. D. (1998). CGS 10746B, a novel dopamine release inhibitor, blocks the establishment of cocaine and MDMA conditioned place preferences. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 59(1), 215–220.
- Black, K., Shea, C., Dursun, S., & Kutcher, S. (2000). Selective serotonin reuptake inhibitor discontinuation syndrome: proposed diagnostic criteria. *Journal of psychiatry & neuroscience*, 25(3), 255–261.
- Blaha, C. D., & Lane, R. F. (1984). Direct in vivo electrochemical monitoring of dopamine release in response to neuroleptic drugs. *European journal of pharmacology*, 98(1), 113–117.
- Blessing, W W, & Seaman, B. (2003). 5-hydroxytryptamine(2A) receptors regulate sympathetic nerves constricting the cutaneous vascular bed in rabbits and rats. *Neuroscience*, 117(4), 939–948.
- Blessing, W W, Seaman, B., Pedersen, N. P., & Ootsuka, Y. (2003). Clozapine reverses hyperthermia and sympathetically mediated cutaneous vasoconstriction induced by 3,4-methylenedioxyamphetamine (ecstasy) in rabbits and rats. *The Journal of neuroscience*, 23(15), 6385–6391.
- Bogetto, F., Bellino, S., Revello, R. B., & Patria, L. (2002). Discontinuation syndrome in dysthymic patients treated with selective serotonin reuptake inhibitors: a clinical investigation. *CNS drugs*, 16(4), 273–283.
- Bogt, ter, T. F., & Engels, R. C. M. E. (2005). "Partying" hard: party style, motives for and effects of MDMA use at rave parties. *Substance use & misuse*, 40(9-10), 1479–1502.
- Bolla, K. I., McCann, U D, & Ricaurte, G A. (1998). Memory impairment in abstinent MDMA ("Ecstasy") users. *Neurology*, 51(6), 1532–1537.
- Bonaccorso, S., Meltzer, H. Y., Li, Z., Dai, J., Alboszta, A. R., & Ichikawa, J. (2002). SR46349-B, a 5-HT(2A/2C) receptor antagonist, potentiates haloperidol-induced dopamine release in rat medial prefrontal cortex and nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology*, 27(3), 430–441.
- Boothman, L. J., Mitchell, S. N., & Sharp, Trevor. (2006). Investigation of the SSRI augmentation properties of 5-HT(2) receptor antagonists using in vivo microdialysis. *Neuropharmacology*, 50(6), 726–732.

Bibliografía.

- Bosker, W. M., Kuypers, Kim P C, Conen, S., & Ramaekers, Johannes G. (2010). Dose-related effects of MDMA on psychomotor function and mood before, during, and after a night of sleep loss. *Psychopharmacology*, 209(1), 69–76.
- Bouso, J. C., Doblin, R., Farre, Magi, Alcázar, M. A., & Gómez-Jarabo, G. (2008). MDMA-assisted psychotherapy using low doses in a small sample of women with chronic posttraumatic stress disorder. *Journal of psychoactive drugs*, 40(3), 225–236.
- Bowyer, John F, Young, J. F., Slikker, W., Itzak, Y., Mayorga, A. J., Newport, G. D., Ali, S. F., et al. (2003). Plasma levels of parent compound and metabolites after doses of either d-fenfluramine or d-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) that produce long-term serotonergic alterations. *Neurotoxicology*, 24(3), 379–390.
- Boyle, N. T., & Connor, Thomas J. (2010). Methylenedioxymethamphetamine (“Ecstasy”)-induced immunosuppression: a cause for concern. *British Journal of Pharmacology*, 161(1), 17–32.
- Braida, Daniela, & Sala, Mariaelvina. (2002). Role of the endocannabinoid system in MDMA intracerebral self-administration in rats. *British Journal of Pharmacology*, 136(8), 1089–1092.
- Braida, D, Iosué, S., Pegorini, S., & Sala, M. (2005). 3,4 Methylenedioxymethamphetamine-induced conditioned place preference (CPP) is mediated by endocannabinoid system. *Pharmacological research*, 51(2), 177–182.
- Breier, J. M., Bankson, Michael G, & Yamamoto, Bryan K. (2006). L-tyrosine contributes to (+)-3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced serotonin depletions. *The Journal of neuroscience*, 26(1), 290–299.
- Brennan, K. A., Carati, C., Lea, R. A., Fitzmaurice, Paul S, & Schenk, Susan. (2009). Effect of D1-like and D2-like receptor antagonists on methamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine self-administration in rats. *Behavioural pharmacology*, 20(8), 688–694.
- Breslau, N., & Peterson, E. L. (1996). Smoking cessation in young adults: age at initiation of cigarette smoking and other suspected influences. *American journal of public health*, 86(2), 214–220.
- Broadbear, J. H., Tunstall, B., & Beringer, K. (2011). Examining the role of oxytocin in the interoceptive effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, “ecstasy”) using a drug discrimination paradigm in the rat. *Addiction biology*, 16(2), 202–214.
- Brodkin, J., Malyala, A., & Nash, J F. (1993). Effect of acute monoamine depletion on 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced neurotoxicity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 45(3), 647–653.
- Broening, H. W., Bowyer, J F, & Slikker, W. (1995). Age-dependent sensitivity of rats to the long-term effects of the serotonergic neurotoxicant (+/-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) correlates with the magnitude of the MDMA-induced thermal response. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 275(1), 325–333.
- Broening, H. W., Morford, L. L., Inman-Wood, S. L., Fukumura, M., & Vorhees, C V. (2001). 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy)-induced learning and memory impairments depend on the age of exposure during early development. *The Journal of Neuroscience*, 21(9), 3228–3235.
- Brown, R. M., Short, J. L., & Lawrence, A. J. (2010). Identification of brain nuclei implicated in cocaine-primed reinstatement of conditioned place preference: a behaviour dissociable from sensitization. *PLoS one*, 5(12), e15889.

- Brownley, K. A., McMurray, R. G., & Hackney, A. C. (1995). Effects of music on physiological and affective responses to graded treadmill exercise in trained and untrained runners. *International journal of psychophysiology*, 19(3), 193–201.
- Bruno, Raimondo, Matthews, A. J., Topp, L., Degenhardt, L., Gomez, R., & DUNN, M. (2009). Can the severity of dependence scale be usefully applied to 'ecstasy'. *Neuropsychobiology*, 60(3-4), 137–147.
- Bubar, M. J., Pack, K. M., Frankel, P. S., & Cunningham, Kathryn A. (2004). Effects of dopamine D1- or D2-like receptor antagonists on the hypermotive and discriminative stimulus effects of (+)-MDMA. *Psychopharmacology*, 173(3-4), 326–336.
- Buchert, R., Thomasius, R., Nebeling, B., Petersen, K., Obrocki, J., Jenicke, L., Wilke, F., et al. (2003). Long-term effects of "ecstasy" use on serotonin transporters of the brain investigated by PET. *Journal of nuclear medicine*, 44(3), 375–384.
- Buchert, R., Thomasius, R., Wilke, F., Petersen, K., Nebeling, B., Obrocki, J., Schulze, O., et al. (2004). A voxel-based PET investigation of the long-term effects of "Ecstasy" consumption on brain serotonin transporters. *The American journal of psychiatry*, 161(7), 1181–1189.
- Buchert, R., Thomasius, R., Petersen, K., Wilke, F., Obrocki, J., Nebeling, B., Wartberg, L., et al. (2006). Reversibility of ecstasy-induced reduction in serotonin transporter availability in polydrug ecstasy users. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 33(2), 188–199.
- Bull, E J, Hutson, P H, & Fone, K C F. (2003). Reduced social interaction following 3,4-methylenedioxymethamphetamine is not associated with enhanced 5-HT 2C receptor responsivity. *Neuropharmacology*, 44(4), 439–448.
- Bull, Eleanor J, Hutson, Peter H, & Fone, Kevin C F. (2004). Decreased social behaviour following 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) is accompanied by changes in 5-HT2A receptor responsivity. *Neuropharmacology*, 46(2), 202–210.
- Bunney, B. S., & Grace, A. A. (1978). Acute and chronic haloperidol treatment: comparison of effects on nigral dopaminergic cell activity. *Life sciences*, 23(16), 1715–1727.
- Bunzow JR, Sonders MS, Arttamangkul S, Harrison LM, Zhang G, Quigley DI, Darland T, Suchland KL, Pasumamula S, Kennedy JL, Olson SB, Magenis RE, Amara SG, Grandy DK. (2001). Amphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine, lysergic acid diethylamide, and metabolites of the catecholamine neurotransmitters are agonists of a rat trace amine receptor. *Mol Pharmacol*. 2001;60(6):1181-8.
- Burgess, C., & O'Donohoe, A. (2000). Agony and ecstasy: a review of MDMA effects and toxicity. *European psychiatry*. 2000;15(5):287-94.
- Burmeister, J. J., Lungren, E. M., Kirschner, K. F., & Neisewander, J. L. (2004). Differential roles of 5-HT receptor subtypes in cue and cocaine reinstatement of cocaine-seeking behavior in rats. *Neuropsychopharmacology*, 29(4), 660–668.
- Busceti, C. L., Biagioni, F., Rizzo, B., Battaglia, G., Storto, M., Cinque, C., Molinaro, G., et al. (2008). Enhanced tau phosphorylation in the hippocampus of mice treated with 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("Ecstasy"). *The Journal of Neuroscience*, 28(12), 3234–3245.
- Byrne, T., Baker, L E, & Poling, A. (2000). MDMA and learning: effects of acute and neurotoxic exposure in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 66(3), 501–508.
- Cadoni, C., Solinas, M., Pisanu, A., Zernig, G., Acquas, E., & Di Chiara, G. (2005). Effect of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") on dopamine transmission in the nucleus accumbens shell and core. *Brain research*, 1055(1-2), 143–148.

Bibliografia.

- Cain, S. W., Ko, C. H., Chalmers, J. A., & Ralph, M. R. (2004). Time of day modulation of conditioned place preference in rats depends on the strain of rat used. *Neurobiology of learning and memory*, 81(3), 217–220.
- Caine, S. B., Thomsen, M., Gabriel, K. I., Berkowitz, J. S., Gold, L. H., Koob, G. F., Tonegawa, S., et al. (2007). Lack of self-administration of cocaine in dopamine D1 receptor knock-out mice *The Journal of Neuroscience*, 27(48), 13140–13150.
- Callahan PM, Appel JB. (1988). Differences in the stimulus properties of 3,4-methylenedioxyamphetamine and 3,4- methylenedioxymethamphetamine in animals trained to discriminate hallucinogens from saline. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1988;246(3):666-70.
- Callaway, C. W., & Geyer, M. A. (1992a). Tolerance and cross-tolerance to the activating effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and a 5-hydroxytryptamine1B agonist. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 263(1), 318–326.
- Callaway, C. W., & Geyer, M. A. (1992b). Stimulant effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in the nucleus accumbens of rat. *European journal of pharmacology*, 214(1), 45–51.
- Callaway, C. W., Johnson, M. P., Gold, L. H., Nichols, D E, & Geyer, M. A. (1991). Amphetamine derivatives induce locomotor hyperactivity by acting as indirect serotonin agonists. *Psychopharmacology*, 104(3), 293–301.
- Callaway, C. W., Rempel, N., Peng, R. Y., & Geyer, M. A. (1992). Serotonin 5-HT₁-like receptors mediate hyperactivity in rats induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *Neuropsychopharmacology*, 7(2), 113–127.
- Callaway, C. W., Wing, L. L., & Geyer, M. A. (1990). Serotonin release contributes to the locomotor stimulant effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 254(2), 456–464.
- Camarasa, Jorge, Marimón, J. M., Rodrigo, T., Escubedo, Elena, & Pubill, David. (2008). Memantine prevents the cognitive impairment induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine in rats. *European journal of pharmacology*, 589(1-3), 132–139.
- Camarero, Jorge, Sanchez, Veronica, O'Shea, Esther, Green, A Richard, & Colado, M Isabel. (2002). Studies, using in vivo microdialysis, on the effect of the dopamine uptake inhibitor GBR 12909 on 3,4-methylenedioxymethamphetamine (“ecstasy”)-induced dopamine release and free radical formation in the mouse striatum. *Journal of neurochemistry*, 81(5), 961–972.
- Camí, J., Farre, M., Mas, M., Roset, P. N., Poudevida, S., Mas, A., San, L., et al. (2000). Human pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (“ecstasy”): psychomotor performance and subjective effects. *Journal of clinical psychopharmacology*, 20(4), 455–466.
- Campbell, G. A., & Rosner, M. H. (2008). The Agony of Ecstasy: MDMA (3,4-Methylenedioxymethamphetamine) and the Kidney. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 3(6), 1852–1860.
- Campbell, N. G., Koprach, J. B., Kanaan, N. M., & Lipton, J. W. (2006). MDMA administration to pregnant Sprague-Dawley rats results in its passage to the fetal compartment. *Neurotoxicology and teratology*, 28(4), 459–465.
- Capela, João Paulo, Meisel, A., Abreu, A. R., Branco, P. S., Ferreira, L. M., Lobo, A. M., Remião, F., et al. (2006). Neurotoxicity of Ecstasy metabolites in rat cortical neurons, and influence of hyperthermia. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 316(1), 53–61.

- Capela, J P, Macedo, C., Branco, P. S., Ferreira, L. M., Lobo, A. M., Fernandes, E., Remião, F., et al. (2007). Neurotoxicity mechanisms of thioether ecstasy metabolites *Neuroscience*, 146(4), 1743–1757.
- Capela, João Paulo, Lautenschlager, M., Dirnagl, U., Bastos, M. L., Carvalho, F., & Meisel, A. (2008). 5,7-Dihydroxytryptamine toxicity to serotonergic neurons in serum free raphe cultures. *European journal of pharmacology*, 588(2-3), 232–238.
- Capela, João Paulo, Carmo, H., Remião, F., Bastos, M. L., Meisel, A., & Carvalho, F. (2009). Molecular and Cellular Mechanisms of Ecstasy-Induced Neurotoxicity: An Overview. *Molecular neurobiology*, 39(3), 210–271.
- Carr, G. D., Fibiger, H., & Phillips, A. G. (1989). Conditioned place preference as a measure of drug reward. *The Neuropharmacological Basis of Reward*, 264–139.
- Carroll, M. E., Lac, S. T., Asencio, M., & Kragh, R. (1990). Fluoxetine reduces intravenous cocaine self-administration in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 35(1), 237–244.
- Carvalho, Márcia, Hawksworth, G., Milhazes, N., Borges, F., Monks, T. J., Fernandes, E., Carvalho, F., et al. (2002a). Role of metabolites in MDMA (ecstasy)-induced nephrotoxicity: an in vitro study using rat and human renal proximal tubular cells. *Archives of toxicology*, 76(10), 581–588.
- Carvalho, Márcia, Carvalho, F., Remião, F., de Lourdes Pereira, M., Pires-das-Neves, R., & de Lourdes Bastos, M. (2002b). Effect of 3,4-methylenedioxyamphetamine (“ecstasy”) on body temperature and liver antioxidant status in mice: influence of ambient temperature. *Archives of toxicology*, 76(3), 166–172.
- Carvalho, Márcia, Remião, F., Milhazes, N., Borges, F., Fernandes, E., Monteiro, M. D. C., Gonçalves, M. J., et al. (2004a). Metabolism is required for the expression of ecstasy-induced cardiotoxicity in vitro. *Chemical research in toxicology*, 17(5), 623–632.
- Carvalho, M, Remião, F., Milhazes, N., & Borges, F. (2004b). The toxicity of N-methyl-[alpha]-methyl-dopamine to freshly isolated rat hepatocytes is prevented by ascorbic acid and N-acetylcysteine. *Toxicology*. 2004 Aug 5;200(2-3):193-203.
- Cassel, J.-C., Jeltsch, H., Koenig, J., & Jones, Byron C. (2004). Locomotor and pyretic effects of MDMA-ethanol associations in rats. *Alcohol (Fayetteville, NY)*, 34(2-3), 285–289.
- Catlow, B. J., Badanich, K. A., Sponaugle, A. E., Rowe, A. R., Song, S., Rafalovich, I., Sava, V., et al. (2010). Effects of MDMA (“ecstasy”) during adolescence on place conditioning and hippocampal neurogenesis. *European journal of pharmacology*, 628(1-3), 96–103.
- Cervo, L., Carnovali, F., Stark, J. A., & Mennini, T. (2003). Cocaine-seeking behavior in response to drug-associated stimuli in rats: involvement of D3 and D2 dopamine receptors *Neuropsychopharmacology*, 28(6), 1150–1159.
- Check, E. (2004). Psychedelic drugs: the ups and downs of ecstasy. *Nature*, 429(6988), 126–128.
- Chefer, V. I., & Shippenberg, T. S. (2002). Changes in basal and cocaine-evoked extracellular dopamine uptake and release in the rat nucleus accumbens during early abstinence from cocaine: quantitative determination under transient conditions. *Neuroscience*, 112(4), 907–919.
- Chen, H. I., Kuo, Y. M., Liao, C.-H., Jen, C. J., Huang, A. M., Cherng, C. G., Su, S.-W., et al. (2008). Long-term compulsive exercise reduces the rewarding efficacy of 3,4-methylenedioxyamphetamine. *Behavioural brain research*, 187(1), 185–189.
- Chen, L., & Xu, Ming. (2010). Dopamine D1 and D3 receptors are differentially involved in cue-elicited cocaine seeking. *Journal of neurochemistry*, 114(2), 530–541.

Bibliografía.

- Chen, N. H., & Reith, M. E. (1994). Effects of locally applied cocaine, lidocaine, and various uptake blockers on monoamine transmission in the ventral tegmental area of freely moving rats: a microdialysis study on monoamine interrelationships. *Journal of neurochemistry*, 63(5), 1701–1713.
- Chipana, C., Camarasa, J., Pubill, D., & Escubedo, E. (2006). Protection against MDMA-induced dopaminergic neurotoxicity in mice by methyllycaconitine: involvement of nicotinic receptors. *Neuropharmacology*, 51(4), 885–895.
- Chu, T., Kumagai, Y., DiStefano, E. W., & Cho, A. K. (1996). Disposition of methylenedioxymethamphetamine and three metabolites in the brains of different rat strains and their possible roles in acute serotonin depletion. *Biochemical pharmacology*, 51(6), 789–796.
- Chummun, H., Tilley, V., & Ibe, J. (2010). 3,4-methylenedioxyamphetamine (ecstasy) use reduces cognition. *British journal of nursing*, 19(2), 94–100.
- Ciccocioppo, R. (1999). The role of serotonin in craving: from basic research to human studies. *Alcohol and alcoholism*, 34(2), 244–253.
- Clarke, H. F., Dalley, J W, Crofts, H. S., Robbins, T W, & Roberts, A. C. (2004). Cognitive inflexibility after prefrontal serotonin depletion. *Science*, 304(5672), 878–880.
- Clarke, H. F., Walker, S. C., Dalley, J W, Robbins, T W, & Roberts, A. C. (2007). Cognitive inflexibility after prefrontal serotonin depletion is behaviorally and neurochemically specific. *Cerebral cortex*, 17(1), 18–27.
- Cohen, M. A., Skelton, M. R., Schaefer, T. L., Gudelsky, G. A., Vorhees, C. V., & Williams, M. T. (2005). Learning and memory after neonatal exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) in rats: interaction with exposure in adulthood. *Synapse*, 57(3), 148–159.
- Cohen, R. S. (1995). Subjective reports on the effects of the MDMA (“ecstasy”) experience in humans. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 19(7), 1137–1145.
- Cohen, R. S. (1996). Adverse symptomatology and suicide associated with the use of methylenedioxymethamphetamine (MDMA; “Ecstasy”). *Biological psychiatry*, 39(9), 819–820.
- Cohen, R. S., & Cocores, J. (1997). Neuropsychiatric manifestations following the use of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA: “Ecstasy”). *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 21(4), 727–734.
- Colado MI, J. L. W., & Green, A R. (1995). The hyperthermic and neurotoxic effects of “Ecstasy” (MDMA) and 3,4 methylenedioxyamphetamine (MDA) in the Dark Agouti (DA) rat, a model of the CYP2D6 poor metabolizer phenotype. *British Journal of Pharmacology*, 115(7), 1281.
- Colado, M I, O’Shea, E., Granados, R., Misra, A., Murray, T. K., & Green, A. R. (1997a). A study of the neurotoxic effect of MDMA (“ecstasy”) on 5-HT neurones in the brains of mothers and neonates following administration of the drug during pregnancy. *British Journal of Pharmacology*, 121(4), 827–833.
- Colado, M I, O’Shea, E., Granados, R., Esteban, B., Martín, A. B., & Green, A. R. (1999a). Studies on the role of dopamine in the degeneration of 5-HT nerve endings in the brain of Dark Agouti rats following 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or “ecstasy”) administration. *British Journal of Pharmacology*, 126(4), 911–924.
- Colado, M I, Camarero, J., Mechan, A. O., Sanchez, V., Esteban, B., Elliott, J. M., & Green, A. R. (2001a). A study of the mechanisms involved in the neurotoxic action of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, “ecstasy”) on dopamine neurones in mouse brain *British Journal of Pharmacology*, 134(8), 1711–1723.

- Colado, M Isabel, Camarero, J., Mehan, A. O., Sanchez, V., Esteban, B., Elliott, J. M., & Green, A. R. (2001b). A study of the mechanisms involved in the neurotoxic action of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") on dopamine neurones in mouse brain. *British Journal of Pharmacology*, 134(8), 1711–1723.
- Colado, M I, & Green, A R. (1995). The spin trap reagent alpha-phenyl-N-tert-butyl nitron prevents "ecstasy"-induced neurodegeneration of 5-hydroxytryptamine neurons. *European journal of pharmacology*, 280(3), 343–346.
- Colado, M I, Esteban, B, O'Shea, E, Granados, R., & Green, A R. (1999c). Studies on the neuroprotective effect of pentobarbitone on MDMA-induced neurodegeneration. *Psychopharmacology*, 142(4), 421–425.
- Colado, M I, Granados, R., O'Shea, E, Esteban, B, & Green, A R. (1998). Role of hyperthermia in the protective action of clomethiazole against MDMA ("ecstasy")-induced neurodegeneration, comparison with the novel NMDA channel blocker AR-R15896AR. *British Journal of Pharmacology*, 124(3), 479–484.
- Colado, M I, Murray, T. K., & Green, A R. (1993). 5-HT loss in rat brain following 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA), p-chloroamphetamine and fenfluramine administration and effects of chlormethiazole and dizocilpine. *British Journal of Pharmacology*, 108(3), 583–589.
- Colado, M Isabel, O'Shea, Esther, & Green, A Richard. (2004). Acute and long-term effects of MDMA on cerebral dopamine biochemistry and function. *Psychopharmacology*, 173(3-4), 249–263.
- Colado, M I, O'Shea, E, Esteban, B, & Green, A R. (2001c). Studies on the neuroprotective effect of the enantiomers of AR-A008055, a compound structurally related to clomethiazole, on MDMA ("ecstasy")-induced neurodegeneration in rat brain. *Psychopharmacology*, 157(1), 82–88.
- Colado, M I, O'Shea, E, Esteban, B, Granados, R., & Green, A R. (1999b). In vivo evidence against clomethiazole being neuroprotective against MDMA ("ecstasy")-induced degeneration of rat brain 5-HT nerve terminals by a free radical scavenging mechanism. *Neuropharmacology*, 38(2), 307–314.
- Colado, Maria Isabel, O'Shea, E, Granados, R., Murray, T. K., & Green, A R. (1997b). In vivo evidence for free radical involvement in the degeneration of rat brain 5-HT following administration of MDMA ("ecstasy") and p-chloroamphetamine but not the degeneration following fenfluramine. *British Journal of Pharmacology*, 121(5), 889–900.
- Colado MI, O'Shea E, Granados R, Murray TK, Green AR. (1997c). In vivo evidence for free radical involvement in the degeneration of rat brain 5-HT following administration of MDMA ('ecstasy') and p-chloroamphetamine but not the degeneration following fenfluramine. *British journal of Pharmacology*, 1997 Jul;121(5):889-900.
- Cole, J C, & Sumnall, H R. (2003a). Altered states: the clinical effects of Ecstasy. *Pharmacology & therapeutics*, 98(1), 35–58.
- Cole, J C, & Sumnall, H R. (2003b). The pre-clinical behavioural pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27(3), 199–217.
- Cole, J C, Sumnall, H R, O'Shea, E, & Marsden, C A. (2003). Effects of MDMA exposure on the conditioned place preference produced by other drugs of abuse. *Psychopharmacology*, 166(4), 383–390.
- Collu, M., Poggiu, A. S., Devoto, P., & Serra, G. (1997b). Behavioural sensitization of mesolimbic dopamine D2 receptors in chronic fluoxetine-treated rats. *European journal of pharmacology*, 322(2-3), 123–127.

Bibliografia.

- Collu, M., Poggiu, A. S., Pani, L., & Serra, G. (1997a). Fluoxetine-induced conditioned place preference: a preliminary study. *Synapse (New York, NY)*, 25(3), 309–311.
- Colussi-Mas, Joyce, & Schenk, Susan. (2008). Acute and sensitized response to 3,4-methylenedioxymethamphetamine in rats: different behavioral profiles reflected in different patterns of Fos expression. *The European journal of neuroscience*, 28(9), 1895–1910.
- Colussi-Mas, Joyce, Wise, R. J., Howard, A., & Schenk, Susan. (2010). Drug seeking in response to a priming injection of MDMA in rats: relationship to initial sensitivity to self-administered MDMA and dorsal striatal dopamine. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 13(10), 1315–1327.
- Commins, D. L., Vosmer, G., Virus, R. M., Woolverton, W. L., Schuster, C. R., & Seiden, L. S. (1987). Biochemical and histological evidence that methylenedioxymethylamphetamine (MDMA) is toxic to neurons in the rat brain. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 241(1), 338–345.
- Compan, V., Scearce-Levie, K., Crosson, C., Daszuta, A., & Hen, R. (2003). Enkephalin contributes to the locomotor stimulating effects of 3,4-methylenedioxy-N-methylamphetamine. *The European journal of neuroscience*, 18(2), 383–390.
- Connolly, E., & O'Callaghan, G. (1999). MDMA toxicity presenting with severe hyperpyrexia: a case report. *Critical care and resuscitation*, 1(4), 368–370.
- Connor, T. (2000). An assessment of the acute effects of the serotonin releasers methylenedioxymethamphetamine, methylenedioxyamphetamine and fenfluramine on immunity in rats. *Immunopharmacology*, 46(3), 223–235.
- Connor, Thomas J. (2004). Methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "Ecstasy"): a stressor on the immune system. *Immunology*, 111(4), 357–367.
- Connor, T J, McNamara, M. G., Finn, D., Currid, A., O'Malley, M., Redmond, A. M., Kelly, J. P., et al. (1998). Acute 3,4-methylenedioxymethamphetamine(MDMA) administration produces a rapid and sustained suppression of immune function in the rat. *Immunopharmacology*, 38(3), 253–260.
- Connor, T J, Kelly, J. P., McGee, M., & Leonard, B. E. (2000). Methylenedioxymethamphetamine (MDMA; Ecstasy) suppresses IL-1beta and TNF-alpha secretion following an in vivo lipopolysaccharide challenge. *Life sciences*, 67(13), 1601–1612.
- Cornish, Jennifer L, Shahnawaz, Z., Thompson, M. R., Wong, S., Morley, K. C., Hunt, G. E., & McGregor, I. S. (2003). Heat increases 3,4-methylenedioxymethamphetamine self-administration and social effects in rats. *European journal of pharmacology*, 482(1-3), 339–341.
- Cottler, L. B., Leung, K. S., & Abdallah, A. B. (2009). Test-re-test reliability of DSM-IV adopted criteria for 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) abuse and dependence: a cross-national study. *Addiction*, 104(10), 1679–1690.
- Cottler, L. B., Womack, S. B., Compton, W. M., & Ben Abdallah, A. (2001). Ecstasy abuse and dependence among adolescents and young adults: applicability and reliability of DSM-IV criteria. *Human psychopharmacology*, 16(8), 599–606.
- Coupland, N. J., Bell, C. J., & Potokar, J. P. (1996). Serotonin reuptake inhibitor withdrawal. *Journal of clinical psychopharmacology*, 16(5), 356–362.
- Covi, L., Hess, J. M., Kreiter, N. A., & Haertzen, C. A. (1995). Effects of combined fluoxetine and counseling in the outpatient treatment of cocaine abusers. *The American journal of drug and alcohol abuse*, 21(3), 327–344.

- Cowan, R. L., Lyoo, I. K., Sung, S. M., Ahn, K. H., Kim, M. J., Hwang, J., Haga, E., et al. (2003). Reduced cortical gray matter density in human MDMA (Ecstasy) users: a voxel-based morphometry study. *Drug and alcohol dependence*, 72(3), 225–235.
- Craig, L., Fisk, J., Montgomery, C., Murphy, P., & Wareing, M. (2010). Is emotional intelligence impaired in ecstasy-polydrug users. *Journal of Psychopharmacology*, 24(2), 221–231.
- Crawford, C. A., Williams, M. T., Kohutec, J. L., Choi, F. Y., Yoshida, S. T., McDougall, S. A., & Vorhees, C. V. (2006). Neonatal 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) exposure alters neuronal protein kinase A activity, serotonin and dopamine content, and [35S]GTPgammaS binding in adult rats. *Brain research*, 1077(1), 178–186.
- Crean, R. D., Davis, S. A., Huben, Von, S. N., Lay, C. C., Katner, S. N., & Taffe, M. A. (2006). Effects of (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine, (+/-)3,4-methylenedioxyamphetamine and methamphetamine on temperature and activity in rhesus macaques. *Neuroscience*, 142(2), 515–525.
- Crean, Rebecca D., Davis, S. A., & Taffe, Michael A. (2007). Oral administration of (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine and (+)methamphetamine alters temperature and activity in rhesus macaques. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 87(1), 11–19.
- Creighton, F. J., Black, D. L., & Hyde, C. E. (1991). "Ecstasy" psychosis and flashbacks. *The British journal of psychiatry*, 159, 713–715.
- Crespi, D., Mennini, Tiziana, & Gobbi, M. (1997). Carrier-dependent and Ca²⁺-dependent 5-HT and dopamine release induced by (+)-amphetamine, 3,4-methylenedioxy-methamphetamine, p-chloroamphetamine and (+)-fenfluramine. *British Journal of Pharmacology*, 121(8), 1735–1743.
- Crews, F., He, J., & Hodge, C. (2007). Adolescent cortical development: a critical period of vulnerability for addiction. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 86(2), 189–199.
- Croft, R. J., Mackay, A. J., Mills, A. T., & Gruzeliar, J. G. (2001). The relative contributions of ecstasy and cannabis to cognitive impairment. *Psychopharmacology*, 153(3), 373–379.
- Cruz, F. C., Marin, M. T., & Planeta, C. S. (2008). The reinstatement of amphetamine-induced place preference is long-lasting and related to decreased expression of AMPA receptors in the nucleus accumbens. *Neuroscience*, 151(2), 313–319.
- Cunningham, Christopher L., Ferree, N. K., & Howard, M. A. (2003). Apparatus bias and place conditioning with ethanol in mice. *Psychopharmacology*, 170(4), 409–422.
- Cunningham, Jacobi I, Raudensky, J., Tonkiss, J., & Yamamoto, Bryan K. (2009). MDMA pretreatment leads to mild chronic unpredictable stress-induced impairments in spatial learning. *Behavioral neuroscience*, 123(5), 1076–1084.
- Curran, H V. (2000). Is MDMA ("Ecstasy") neurotoxic in humans? An overview of evidence and of methodological problems in research. *Neuropsychobiology*, 42(1), 34–41.
- Curran, H V, & Travill, R. A. (1997). Mood and cognitive effects of +/-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'ecstasy'): week-end "high" followed by mid-week low. *Addiction*, 92(7), 821–831.
- Curran, H Valerie, Rees, H., Hoare, T., Hoshi, R., & Bond, A. (2004). Empathy and aggression: two faces of ecstasy? A study of interpretative cognitive bias and mood change in ecstasy users. *Psychopharmacology*, 173(3-4), 425–433.
- Dafters, R I. (1994). Effect of ambient temperature on hyperthermia and hyperkinesis induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or "ecstasy") in rats. *Psychopharmacology*, 114(3), 505–508.

Bibliografía.

- Dafters, R I. (1995). Hyperthermia following MDMA administration in rats: effects of ambient temperature, water consumption, and chronic dosing. *Physiology & behavior*, 58(5), 877–882.
- Dafters, Richard Ian. (2006). Chronic ecstasy (MDMA) use is associated with deficits in task-switching but not inhibition or memory updating executive functions. *Drug and alcohol dependence*, 83(2), 181–184.
- Dafters, R I, & Lynch, E. (1998). Persistent loss of thermoregulation in the rat induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or “Ecstasy”) but not by fenfluramine. *Psychopharmacology*, 138(2), 207–212.
- Dafters, Richard Ian, Hoshi, R., & Talbot, A. C. (2004). Contribution of cannabis and MDMA (“ecstasy”) to cognitive changes in long-term polydrug users. *Psychopharmacology*, 173(3-4), 405–410.
- Daniela, Evangeline, Brennan, K., Gittings, Dave, Hely, L., & Schenk, Susan. (2004). Effect of SCH 23390 on (+/-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine hyperactivity and self-administration in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 77(4), 745–750.
- Daniela, Evangeline, Gittings, David, & Schenk, Susan. (2006). Conditioning following repeated exposure to MDMA in rats: role in the maintenance of MDMA self-administration. *Behavioral neuroscience*, 120(5), 1144–1150.
- Daumann, Jörg, Hensen, G., Thimm, B., Rezk, M., Till, B., & Gouzoulis-Mayfrank, E. (2004a). Self-reported psychopathological symptoms in recreational ecstasy (MDMA) users are mainly associated with regular cannabis use: further evidence from a combined cross-sectional/longitudinal investigation. *Psychopharmacology*, 173(3-4), 398–404.
- Daumann, Jörg, Fischermann, T., Heekeren, K., Thron, A., & Gouzoulis-Mayfrank, Euphrosyne. (2004b). Neural mechanisms of working memory in ecstasy (MDMA) users who continue or discontinue ecstasy and amphetamine use: evidence from an 18-month longitudinal functional magnetic resonance imaging study. *Biological psychiatry*, 56(5), 349–355.
- Daumann, Joerg, Pelz, S., Becker, S., Tuchtenhagen, F., & Gouzoulis-Mayfrank, Euphrosyne. (2001). Psychological profile of abstinent recreational Ecstasy (MDMA) users and significance of concomitant cannabis use. *Human psychopharmacology*, 16(8), 627–633.
- Davidson, C., Gopalan, R., Ahn, C., Chen, Q., Mannelli, P., Patkar, A. A., Weese, G. D., et al. (2007). Reduction in methamphetamine induced sensitization and reinstatement after combined pergolide plus ondansetron treatment during withdrawal. *European journal of pharmacology*, 565(1-3), 113–118.
- Davis, W. M., & Smith, S. G. (1976). Role of conditioned reinforcers in the initiation, maintenance and extinction of drug-seeking behavior. *The Pavlovian journal of biological science*, 11(4), 222–236.
- Davison, D., & Parrot, A. (1997). Ecstasy (MDMA) in recreational users: self-reported psychological and physiological effects. *Human Psychopharmacology*, 12, 221-226.
- Daza-Losada, Manuel, Ribeiro Do Couto, B., Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, J. (2007). Rewarding effects and reinstatement of MDMA-induced CPP in adolescent mice. *Neuropsychopharmacology*, 32(8), 1750–1759.
- Daza-Losada, M, Rodríguez-Arias, M., Maldonado, C., Aguilar, M. A., Guerri, C., & Miñarro, J. (2009b). Acute behavioural and neurotoxic effects of MDMA plus cocaine in adolescent mice. *Neurotoxicology and teratology*, 31(1), 49–59.
- Daza-Losada, M, Miñarro, J, Aguilar, M A, Valverde, O, & Rodríguez-Arias, M. (2011). Acute blockade of CB1 receptor leads to reinstatement of MDMA-induced conditioned place preference. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 100(1), 33–39.

- Daza-Losada, M, Rodríguez-Arias, M., Maldonado, C, Aguilar, M A, & Miñarro, J. (2008a). Behavioural and neurotoxic long-lasting effects of MDMA plus cocaine in adolescent mice. *European journal of pharmacology*, 590(1-3), 204–211.
- Daza-Losada, M, Rodríguez-Arias, M., Aguilar, M.A., & Miñarro, J. (2008b). Effect of adolescent exposure to MDMA and cocaine on acquisition and reinstatement of morphine-induced CPP. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 32(3), 701–709.
- Daza-Losada, Manuel, Rodríguez-Arias, M., Aguilar, María A, & Miñarro, Jose. (2009a). Acquisition and reinstatement of MDMA-induced conditioned place preference in mice pre-treated with MDMA or cocaine during adolescence. *Addiction biology*, 14(4), 447–456.
- de Almeida, S. P., Garcia-Mijares, M., & Silva, M. T. A. (2009). Patterns of ecstasy use and associated harm: results of a Brazilian online survey. *Substance use & misuse*, 44(14), 2014–2027.
- de Felipe, M. C., De Ceballos, M. L., Gil, C., & Fuentes, J. A. (1985). Chronic antidepressant treatment increases enkephalin levels in n. accumbens and striatum of the rat. *European journal of pharmacology*, 112(1), 119–122.
- de la Torre, R, Farre, M., Ortuno, J., Mas, M., Brenneisen, R., Roset, P. N., Segura, J., et al. (2000). Non-linear pharmacokinetics of MDMA (“ecstasy”) in humans. *British journal of clinical pharmacology*, 49(2), 104–109.
- de la Torre, R, Farre, M., Roset, P. N., Pizarro, N., Abanades, S., Segura, M., Segura, J., et al. (2004a). Human pharmacology of MDMA: pharmacokinetics, metabolism, and disposition. *Therapeutic drug monitoring*, 26(2), 137–144.
- de la Torre, R, Farre, M., Navarro, M., Pacifici, R., Zuccaro, P., & Pichini, S. (2004b). Clinical pharmacokinetics of amphetamine and related substances: monitoring in conventional and non-conventional matrices. *Clinical pharmacokinetics*, 43(3), 157–185.
- de la Torre, R, Farre, M., Mathúna, B. O., Roset, P. N., Pizarro, N., Segura, M., Torrens, M., et al. (2005). MDMA (ecstasy) pharmacokinetics in a CYP2D6 poor metaboliser and in nine CYP2D6 extensive metabolisers. *European journal of clinical pharmacology*, 61(7), 551–554. doi:10.1007/s00228-005-0965-y
- de la Torre, R, & Farre, Magi. (2004). Neurotoxicity of MDMA (ecstasy): the limitations of scaling from animals to humans. *Trends in pharmacological sciences*, 25(10), 505–508.
- de la Torre, R, Ortuno, J., Mas, M., Farre, M, & Segura, J. (1999). Fatal MDMA intoxication. *Lancet*, 353(9152), 593–594.
- de Paula, V. F., Ribeiro, A., Pinheiro, M. L., Sakai, M., Lacava, M. C. R., Lapachinske, S. F., Moreau, R. L. M., et al. (2009). Methylendioxyamphetamine (Ecstasy) decreases neutrophil activity and alters leukocyte distribution in bone marrow, spleen and blood. *Neuroimmunomodulation*, 16(3), 191–200.
- de Silva, R. N., & Harries, D. P. (1992). Misuse of ecstasy *BMJ (Clinical research ed)*, 305(6848), 310.
- de Vries, T. J., Schoffelmeer, A. N. M., Binnekade, Rob, Raasø, H., & Vanderschuren, L. J. M. J. (2002). Relapse to cocaine- and heroin-seeking behavior mediated by dopamine D2 receptors is time-dependent and associated with behavioral sensitization. *Neuropsychopharmacology*, 26(1), 18–26.
- de Vries, T. J., Schoffelmeer, A. N., Binnekade, R, & Vanderschuren, L. J. (1999). Dopaminergic mechanisms mediating the incentive to seek cocaine and heroin following long-term withdrawal of IV drug self-administration. *Psychopharmacology*, 143(3), 254–260.
- De Vries, T. J., Schoffelmeer, A. N., Binnekade, R, Mulder, A. H., & Vanderschuren, L. J. (1998). Drug-induced reinstatement of heroin- and cocaine-seeking behaviour following long-term

Bibliografía.

- extinction is associated with expression of behavioural sensitization. *The European journal of neuroscience*, 10(11), 3565–3571.
- de Win, M. M. L., Reneman, L., Reitsma, J. B., Heeten, den, G. J., Booij, J., & den Brink, van, W. (2004). Mood disorders and serotonin transporter density in ecstasy users--the influence of long-term abstinence, dose, and gender. *Psychopharmacology*, 173(3-4), 376–382.
- de Win, M. M. L., Schilt, T., Reneman, L., Vervaeke, H., Jager, G., Dijkink, S., Booij, J., et al. (2006). Ecstasy use and self-reported depression, impulsivity, and sensation seeking: a prospective cohort study. *Journal of Psychopharmacology*, 20(2), 226–235.
- De Wit, H. (1991). Preference procedures for testing the abuse liability of drugs in humans. *British journal of addiction*, 86(12), 1579–1586.
- De Wit, H., & Stewart, J. (1981). Reinstatement of cocaine-reinforced responding in the rat. *Psychopharmacology*, 75(2), 134–143.
- De Wit, H., & Stewart, J. (1983). Drug reinstatement of heroin-reinforced responding in the rat. *Psychopharmacology*, 79(1), 29–31.
- Degenhardt, L., Bruno, Raimondo, & Topp, Libby. (2010). Is ecstasy a drug of dependence? *Drug and alcohol dependence*, 107(1), 1–10.
- del GOBIERNO PARA EL PLAN NACIONAL SOBRE DROGAS, D. (2009). ENCUESTA ESTATAL SOBRE USO DE DROGAS EN ESTUDIANTES DE ENSEÑANZAS SECUNDARIAS (ESTUDES), 1994-2008, 1–43.
- del GOBIERNO PARA EL PLAN NACIONAL SOBRE DROGAS, D. (2011, May 5). presentacionEdades200910.ppt.
- den Brink, van, W., & van Ree, J. M. (2003). Pharmacological treatments for heroin and cocaine addiction. *European Neuropsychopharmacology*, 13(6), 476–487.
- der Kooy, van, D. (1987). Place conditioning: a simple and effective method for assessing the motivational properties of drugs In: Bozarth MA, editor. *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*. New York: Springer-Verlag., 229–240.
- der Kooy, van, D., & Hattori, T. (1980). Dorsal raphe cells with collateral projections to the caudate-putamen and substantia nigra: a fluorescent retrograde double labeling study in the rat *Brain research*, 186(1), 1–7.
- Der-Avakian, A., Will, M. J., Bland, S. T., Deak, T., Nguyen, K. T., Schmid, M. J., Spencer, R. L., et al. (2005). Surgical and pharmacological suppression of glucocorticoids prevents the enhancement of morphine conditioned place preference by uncontrollable stress in rats. *Psychopharmacology*, 179(2), 409–417.
- Di Chiara, G. (1999). Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. *European journal of pharmacology*, 375(1-3), 13–30.
- Di Chiara, G., & Imperato, A. (1988). Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(14), 5274–5278.
- Di Ciano, P., Blaha, C. D., & Phillips, A. G. (1998). Conditioned changes in dopamine oxidation currents in the nucleus accumbens of rats by stimuli paired with self-administration or yoked-administration of d-amphetamine. *The European journal of neuroscience*, 10(3), 1121–1127.
- Dickerson, S. M., Walker, D. M., Reveron, Maria E, Duvauchelle, C. L., & Gore, A. C. (2008). The recreational drug ecstasy disrupts the hypothalamic-pituitary-gonadal reproductive axis in adult male rats. *Neuroendocrinology*, 88(2), 95–102.

- Diller, A. J., Rocha, A., Cardon, A. L., Valles, R., Wellman, P. J., & Nation, J. R. (2007). The effects of concurrent administration of +/-3,4-methylenedioxymethamphetamine and cocaine on conditioned place preference in the adult male rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 88(2), 165–170.
- Dinis-Oliveira, R. J., Caldas, I., Carvalho, Félix, & Magalhães, T. (2010). Bruxism after 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) abuse. *Clinical toxicology*, 48(8), 863–864.
- Dinopoulos, A. (1997). The serotonin innervation of the basal forebrain shows a transient phase during development. *Developmental brain research*, 99(1), 38–52.
- Doblin, R. (2002). A clinical plan for MDMA (Ecstasy) in the treatment of posttraumatic stress disorder (PTSD): partnering with the FDA. *Journal of psychoactive drugs*, 34(2), 185–194.
- Docherty, J R, & Green, A R. (2010). The role of monoamines in the changes in body temperature induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy) and its derivatives. *British Journal of Pharmacology*, 160(5), 1029–1044.
- Doly, S., Valjent, E., Setola, V., Callebert, J., Hervé, D., Launay, J.-M., & Maroteaux, L. (2008). Serotonin 5-HT_{2B} receptors are required for 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced hyperlocomotion and 5-HT release in vivo and in vitro. *The Journal of neuroscience*, 28(11), 2933–2940.
- Doly, S., Bertran-Gonzalez, J., Callebert, J., Bruneau, A., Banas, S. M., Belmer, A., Boutourlinsky, K., et al. (2009). Role of serotonin via 5-HT_{2B} receptors in the reinforcing effects of MDMA in mice *PLoS one*, 4(11), e7952.
- Dremencov, E., Weizmann, Y., Kinor, N., Gispan-Herman, I., & Yadid, Gal. (2006). Modulation of dopamine transmission by 5HT_{2C} and 5HT₃ receptors: a role in the antidepressant response. *Current drug targets*, 7(2), 165–175.
- Duarte, J. A., Leão, A., Magalhães, J., Ascensão, A., Bastos, M. L., Amado, F. L., Vilarinho, L., et al. (2005). Strenuous exercise aggravates MDMA-induced skeletal muscle damage in mice. *Toxicology*, 206(3), 349–358.
- Dughiero, G., Schifano, Fabrizio, & Forza, Giovanni. (2001). Personality dimensions and psychopathological profiles of Ecstasy users. *Human psychopharmacology*, 16(8), 635–639.
- Dumont, G. J. H., Sweep, F. C. G. J., van der Steen, R., Hermsen, R., Donders, A. R. T., Touw, D. J., van Gerven, J. M. A., et al. (2009). Increased oxytocin concentrations and prosocial feelings in humans after ecstasy (3,4-methylenedioxymethamphetamine) administration. *Social Neuroscience*, 4(4), 359–366.
- Dumont, G. J. H., Schoemaker, R. C., Touw, D. J., Sweep, F. C. G. J., Buitelaar, J. K., van Gerven, J. M. A., & Verkes, R. J. (2010). Acute psychomotor effects of MDMA and ethanol (co-) administration over time in healthy volunteers. *Journal of psychopharmacology*, 24(2), 155–164.
- Dumont, G. J. H., van Hasselt, J. G. C., de Kam, M., van Gerven, J. M. A., Touw, D. J., Buitelaar, J. K., & Verkes, R. J. (2011). Acute psychomotor, memory and subjective effects of MDMA and THC co-administration over time in healthy volunteers. *Journal of psychopharmacology*, 25(4), 478–489.
- Dumont, G. J. H., & Verkes, R. J. (2006). A review of acute effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in healthy volunteers. *Journal of Psychopharmacology*, 20(2), 176–187.
- Durlach-Misteli, C., & Van Ree, J. M. (1992). Dopamine and melatonin in the nucleus accumbens may be implicated in the mode of action of antidepressant drugs. *European journal of pharmacology*, 217(1), 15–21.

Bibliografía.

- Dyck, R. H., & Cynader, M. S. (1993). Autoradiographic localization of serotonin receptor subtypes in cat visual cortex: transient regional, laminar, and columnar distributions during postnatal development. *The Journal of neuroscience*, 13(10), 4316–4338.
- Dziedzicka-Wasylewska, M., & Rogoz, R. (1995). The effect of prolonged treatment with imipramine and electroconvulsive shock on the levels of endogenous enkephalins in the nucleus accumbens and the ventral tegmentum of the rat. *Journal of neural transmission*, 102(3), 221–228.
- Edut, S., Rubovitch, V., Schreiber, S., & Pick, C. G. (2011). The intriguing effects of ecstasy (MDMA) on cognitive function in mice subjected to a minimal traumatic brain injury (mTBI). *Psychopharmacology*, 214(4), 877–889.
- Egan, C. T., Herrick-Davis, K., Miller, K., Glennon, R. A., & Teitler, M. (1998). Agonist activity of LSD and lisuride at cloned 5HT_{2A} and 5HT_{2C} receptors *Psychopharmacology*, 136(4), 409–414.
- Eisner, B. (1995). *Historia del MDMA*. Barcelona: Ediciones Obelisco.
- Epstein, D. H., & Preston, K. L. (2003). The reinstatement model and relapse prevention: a clinical perspective. *Psychopharmacology*, 168(1-2), 31–41.
- Epstein, D. H., Preston, K. L., Stewart, Jane, & Shaham, Yavin. (2006). Toward a model of drug relapse: an assessment of the validity of the reinstatement procedure. *Psychopharmacology*, 189(1), 1–16.
- Escobedo, I., O'Shea, E., Orío, L., Sanchez, V., Segura, M., la Torre, de, R., Farre, M., et al. (2005). A comparative study on the acute and long-term effects of MDMA and 3,4-dihydroxymethamphetamine (HHMA) on brain monoamine levels after i.p. or striatal administration in mice. *British Journal of Pharmacology*, 144(2), 231–241.
- Escototado, A. (1998). *Historia general de las drogas*. Espasa-Calpe.
- Escubedo, E, Camarasa, J, Chipana, C., García-Ratés, S., & Pubill, D. (2009). Involvement of nicotinic receptors in methamphetamine- and MDMA-induced neurotoxicity: pharmacological implications. *International review of neurobiology*, 88, 121–166.
- Esteban B, O'Shea E, Camarero J, Sanchez V, Green AR, Colado M (2001). 3,4-Methylenedioxyamphetamine induces monoamine release, but not toxicity, when administered centrally at a concentration occurring following a peripherally injected neurotoxic dose. *Psychopharmacology*;154(3):251-60.
- Ettenberg, A., MacConell, L. A., & Geist, T. D. (1996). Effects of haloperidol in a response-reinstatement model of heroin relapse. *Psychopharmacology*, 124(3), 205–210.
- Evans, W. E., & Relling, M. V. (1999). Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science*, 286(5439), 487–491.
- Everitt, B J, & Robbins, T W. (2000). Second-order schedules of drug reinforcement in rats and monkeys: measurement of reinforcing efficacy and drug-seeking behaviour. *Psychopharmacology*, 153(1), 17–30.
- Fagundo, A. B., Cuyàs, E., Verdejo-García, A., Khymenets, O., Langohr, K., Martín-Santos, R., Farre, M., et al. (2010). The influence of 5-HTT and COMT genotypes on verbal fluency in ecstasy users *Journal of psychopharmacology*, 24(9), 1381–1393.
- Fahal, I. H., Sallomi, D. F., Yaqoob, M., & Bell, G. M. (1992). Acute renal failure after ecstasy *BMJ (Clinical research ed)*, 305(6844), 29.
- Fantegrossi, William E, Godlewski, T., Karabenick, R. L., Stephens, J. M., Ullrich, T., Rice, K. C., & Woods, J. H. (2003). Pharmacological characterization of the effects of 3,4-methylenedioxyamphetamine ("ecstasy") and its enantiomers on lethality, core

- temperature, and locomotor activity in singly housed and crowded mice. *Psychopharmacology*, 166(3), 202–211.
- Fantegrossi, W E, Ciullo, J. R., Wakabayashi, K. T., La Garza, De, R., Traynor, J. R., & Woods, J. H. (2008). A comparison of the physiological, behavioral, neurochemical and microglial effects of methamphetamine and 3,4-methylenedioxyamphetamine in the mouse. *Neuroscience*, 151(2), 533–543.
- Fantegrossi, William E, Ullrich, T., Rice, Kenner C, Woods, J. H., & Winger, G. (2002). 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDMA, "ecstasy") and its stereoisomers as reinforcers in rhesus monkeys: serotonergic involvement. *Psychopharmacology*, 161(4), 356–364.
- Faria, R., Magalhães, A., Monteiro, P. R. R., Gomes-Da-Silva, J., Amélia Tavares, M., & Summavielle, T. (2006). MDMA in adolescent male rats: decreased serotonin in the amygdala and behavioral effects in the elevated plus-maze test. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1074, 643–649.
- Farre, M, la Torre, De, R., Mathúna, B. O., Roset, P. N., Peiró, A. M., Torrens, M., Ortuno, J., et al. (2004). Repeated doses administration of MDMA in humans: pharmacological effects and pharmacokinetics. *Psychopharmacology*, 173(3-4), 364–375.
- Farre, M, Abanades, S., Roset, P. N., Peiró, A. M., Torrens, M., O'Mathuna, B., Segura, M., et al. (2007). Pharmacological Interaction between 3,4-Methylenedioxyamphetamine (Ecstasy) and Paroxetine: Pharmacological Effects and Pharmacokinetics. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 323(3), 954–962.
- Feduccia, A. A., & Duvauchelle, C. L. (2008). Auditory stimuli enhance MDMA-conditioned reward and MDMA-induced nucleus accumbens dopamine, serotonin and locomotor responses. *Brain research bulletin*, 77(4), 189–196.
- Fenu, S., Bassareo, V., & Di Chiara, G. (2001). A role for dopamine D1 receptors of the nucleus accumbens shell in conditioned taste aversion learning. *The Journal Neuroscience*, 21(17), 6897–6904.
- Fernandez, F., Aguerre, S., Mormède, P., & Chaouloff, F. (2002). Influences of the corticotropic axis and sympathetic activity on neurochemical consequences of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA) administration in Fischer 344 rats. *The European journal of neuroscience*, 16(4), 607–618.
- Fernandez, F., Porras, Gregory, Mormède, P., Spampinato, U., & Chaouloff, F. (2003). Effects of 3,4-methylenedioxyamphetamine on locomotor activity and extracellular dopamine in the nucleus accumbens of Fischer 344 and Lewis rats. *Neuroscience letters*, 335(3), 212–216.
- Ferraz-de-Paula, V., Stankevicius, D., Ribeiro, A., Pinheiro, M. L., Rodrigues-Costa, E. C., Florio, J. C., Lapachinske, S. F., et al. (2011). Differential behavioral outcomes of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA-ecstasy) in anxiety-like responses in mice. *Brazilian journal of medical and biological research*, 44(5), 428–437.
- Fetter, J. C. (2005). Mirtazepine for MDMA-induced depression. *The American journal on addictions*, 14(3), 300–301.
- Fijał, K., Pachuta, A., McCreary, A. C., Wydra, K., Nowak, E., Papp, M., Bieńkowski, P., et al. (2010). Effects of serotonin (5-HT)₆ receptor ligands on responding for cocaine reward and seeking in rats. *Pharmacological reports : PR*, 62(6), 1005–1014.
- File, S. E., & Seth, P. (2003). A review of 25 years of the social interaction test. *European journal of pharmacology*, 463(1-3), 35–53.
- Filip, M. (2005). Role of serotonin (5-HT)₂ receptors in cocaine self-administration and seeking behavior in rats. *Pharmacological reports : PR*, 57(1), 35–46.

Bibliografía.

- Filip, M., Alenina, N., Bader, M., & Przegaliński, E. (2010). Behavioral evidence for the significance of serotonergic (5-HT) receptors in cocaine addiction. *Addiction biology*, 15(3), 227–249.
- Fischer C, Hatzidimitriou G, Wlos J, Katz J, Ricaurte G. (1995). Reorganization of ascending 5-HT axon projections in animals previously exposed to the recreational drug (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy"). *The Journal of Neuroscience*, 1995 Aug;15(8):5476-85.
- Fischer, H. S., Zernig, G, Schatz, D. S., Humpel, C., & Saria, A. (2000). MDMA ("ecstasy") enhances basal acetylcholine release in brain slices of the rat striatum. *The European journal of neuroscience*, 12(4), 1385–1390.
- Fisk, John E, Murphy, Philip N, Montgomery, Catharine, & Hadjiefthyvoulou, F. (2011). Modelling the adverse effects associated with ecstasy use. *Addiction*,106(4), 798–805.
- Fitzgerald, J. L., & Reid, J. J. (1990). Effects of methylenedioxymethamphetamine on the release of monoamines from rat brain slices. *European journal of pharmacology*, 191(2), 217–220.
- Fletcher, P J. (1995). Effects of d-fenfluramine and metergoline on responding for conditioned reward and the response potentiating effect of nucleus accumbens d-amphetamine. *Psychopharmacology*, 118(2), 155–163.
- Fletcher, P J. (1998). A comparison of the effects of risperidone, raclopride, and ritanserin on intravenous self-administration of d-amphetamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 60(1), 55–60.
- Fletcher, Paul J, Grottick, A. J., & Higgins, G. A. (2002a). Differential effects of the 5-HT(2A) receptor antagonist M100907 and the 5-HT(2C) receptor antagonist SB242084 on cocaine-induced locomotor activity, cocaine self-administration and cocaine-induced reinstatement of responding. *Neuropsychopharmacology*, 27(4), 576–586.
- Fletcher, Paul J, Korth, K. M., Robinson, Shannon R, & Baker, Glen B. (2002b). Multiple 5-HT receptors are involved in the effects of acute MDMA treatment: studies on locomotor activity and responding for conditioned reinforcement. *Psychopharmacology*, 162(3), 282–291.
- Fletcher, P J, Robinson, S R, & Slippoy, D. L. (2001). Pre-exposure to (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) facilitates acquisition of intravenous cocaine self-administration in rats *Neuropsychopharmacology*, 25(2), 195–203.
- Fletcher, Paul J, Sinyard, J., & Higgins, G. A. (2006). The effects of the 5-HT(2C) receptor antagonist SB242084 on locomotor activity induced by selective, or mixed, indirect serotonergic and dopaminergic agonists. *Psychopharmacology*, 187(4), 515–525.
- Fletcher, Paul, Korth, K., Robinson, Shannon, & Baker, Glen. (2002c). Multiple 5-HT receptors are involved in the effects of acute MDMA treatment: studies on locomotor activity and responding for conditioned reinforcement. *Psychopharmacology*, 162(3), 282–291.
- Fone, Kevin C F, Beckett, S. R. G., Topham, I. A., Swettenham, J., Ball, M., & Maddocks, L. (2002). Long-term changes in social interaction and reward following repeated MDMA administration to adolescent rats without accompanying serotonergic neurotoxicity. *Psychopharmacology*, 159(4), 437–444.
- Fonsart, J., Menet, M.-C., Declèves, X., Galons, H., Crété, D., Debray, M., Scherrmann, J.-M., et al. (2008). Sprague-Dawley rats display metabolism-mediated sex differences in the acute toxicity of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy). *Toxicology and applied pharmacology*, 230(1), 117–125.
- Font, L., Miquel, M., & Aragon, C. M. G. (2008). Involvement of brain catalase activity in the acquisition of ethanol-induced conditioned place preference. *Physiology & behavior*, 93(4-5), 733–741.

- Fornai, F., Giorgi, F. S., Gesi, M., Chen, K., Alessrì, M. G., & Shih, J. C. (2001). Biochemical effects of the monoamine neurotoxins DSP-4 and MDMA in specific brain regions of MAO-B-deficient mice. *Synapse*, 39(3), 213–221.
- Fornai, F., Gesi, M., Lenzi, P., Ferrucci, M., Pellegrini, A., Ruggieri, S., Casini, A., et al. (2002). Striatal postsynaptic ultrastructural alterations following methylenedioxymethamphetamine administration. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 965, 381–398.
- Fornai, F., Lazzeri, G., Lenzi, P., Gesi, M., Ferrucci, M., Soldani, P., Pellegrini, A., et al. (2003). Amphetamines induce ubiquitin-positive inclusions within striatal cells. *Neurological sciences*, 24(3), 182–183.
- Fornai, F., Lenzi, P., Frenzilli, G., Gesi, M., Ferrucci, M., Lazzeri, G., Biagioni, F., et al. (2004). DNA damage and ubiquitinated neuronal inclusions in the substantia nigra and striatum of mice following MDMA (ecstasy). *Psychopharmacology*, 173(3-4), 353–363.
- Fox, H C, McLean, A., Turner, J. J. D., Parrott, A. C., Rogers, R., & Sahakian, B. J. (2002). Neuropsychological evidence of a relatively selective profile of temporal dysfunction in drug-free MDMA ("ecstasy") polydrug users. *Psychopharmacology*, 162(2), 203–214.
- Fox, H C, Toplis, A. S., Turner, J J D, & Parrott, A C. (2001). Auditory verbal learning in drug-free Ecstasy polydrug users. *Human psychopharmacology*, 16(8), 613–618.
- Fozard, J. R. (1984). MDL 72222: a potent and highly selective antagonist at neuronal 5-hydroxytryptamine receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 326(1), 36–44.
- Frederick, D. L., Ali, S. F., Slikker, W., Gillam, M. P., Allen, R. R., & Paule, M. G. (1995a). Behavioral and neurochemical effects of chronic methylenedioxymethamphetamine (MDMA) treatment in rhesus monkeys. *Neurotoxicology and teratology*, 17(5), 531–543.
- Frederick, D. L., Gillam, M. P., Allen, R. R., & Paule, M. G. (1995b). Acute effects of methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on several complex brain functions in monkeys. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 51(2-3), 301–307.
- Freedman, R. R., Johanson, C.-E., & Tancer, M. E. (2005). Thermoregulatory effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in humans. *Psychopharmacology*, 183(2), 248–256.
- Frenzilli, G., Ferrucci, M., Giorgi, F. S., Blandini, F., Nigro, M., Ruggieri, S., Murri, L., et al. (2007). DNA fragmentation and oxidative stress in the hippocampal formation: a bridge between 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) intake and long-lasting behavioral alterations. *Behavioural pharmacology*, 18(5-6), 471–481.
- Freudenmann, R. W., Oxler, F., & Bernschneider-Reif, S. (2006a). The origin of MDMA (ecstasy) revisited: the true story reconstructed from the original documents. *Addiction*, 101(9), 1241–1245.
- Freudenmann, R. W., Schönfeldt-Lecuona, C., Spitzer, M., Hermle, L., & Grön, G. (2006b). Electroconvulsive therapy in the treatment of depression in a former ecstasy user *Journal of Psychopharmacology*, 20(6), 860–862.
- Fu, J., Gaetani, S., Oveisi, F., Verme, Lo, J., Serrano, A., de Fonseca, F. R. I. G., Rosengarth, A., et al. (2003). Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR- α . *Nature*, 425(6953), 90–93.
- Galineau, L., Belzung, C., Kudas, E., Bodard, S., Guilloteau, D., & Chalon, S. (2005). Prenatal 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) exposure induces long-term alterations in the dopaminergic and serotonergic functions in the rat. *Brain research Developmental brain research*, 154(2), 165–176.

Bibliografia.

- Galizio, M., McKinney, P., Cerutti, D. T., & Pitts, R. C. (2009). Effects of MDMA, methamphetamine and methylphenidate on repeated acquisition and performance in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 94(2), 305–311.
- Galvan. (2010). Adolescent development of the reward system. *Frontiers in Human Neuroscience*, 12;4:6.
- Gamella, J. (1999). *Las rutas del éxtasis: drogas de síntesis y nuevas culturas juveniles*. Ariel 1999.
- Gamma, A., Frei, E., Lehmann, D., Pascual-Marqui, R. D., Hell, D., & Vollenweider, F. X. (2000). Mood state and brain electric activity in ecstasy users. *Neuroreport*, 11(1), 157–162.
- García-Ratés, S., Camarasa, Jordi, Escubedo, Elena, & Pubill, David. (2007). Methamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine interact with central nicotinic receptors and induce their up-regulation. *Toxicology and applied pharmacology*, 223(3), 195–205.
- García-Repetto, R. (2003). Tissue concentrations of MDMA and its metabolite MDA in three fatal cases of overdose. *Forensic Science International*, 135(2), 110–114.
- Gartside, S. E., Cowen, P. J., & Sharp, T. (1992). Effect of 5-hydroxy-L-tryptophan on the release of 5-HT in rat hypothalamus in vivo as measured by microdialysis. *Neuropharmacology*, 31, 9–14.
- George, J., Kinner, S.A., Bruno, Raimondo, Degenhardt, L., & Dunn, M. (2010). Contextualising psychological distress among regular ecstasy users: The importance of sociodemographic factors and patterns of drug use. *Drug and Alcohol Review*, 29(3), 243–249.
- Gerra, G, Zaimovic, A., Franchini, D., Palladino, M., Giucastro, G., Reali, N., Maestri, D., et al. (1998). Neuroendocrine responses of healthy volunteers to "techno-music": relationships with personality traits and emotional state. *International Journal of Psychophysiology*, 28(1), 99–111.
- Gerra, G, Zaimovic, A., Ferri, M., Zambelli, U., Timpano, M., Neri, E., Marzocchi, G. F., et al. (2000). Long-lasting effects of (+/-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) on serotonin system function in humans. *Biological psychiatry*, 47(2), 127–136.
- Gerra, Gilberto, Zaimovic, A., Moi, G., Giusti, F., Gardini, S., Delsignore, R., Laviola, G., et al. (2002). Effects of (+/-) 3,4-methylene-dioxymethamphetamine (ecstasy) on dopamine system function in humans. *Behavioural brain research*, 134(1-2), 403–410.
- Gerra, Gilberto, Bassignana, S., Zaimovic, A., Moi, G., Bussandri, M., Caccavari, R., Brambilla, F., et al. (2003). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to stress in subjects with 3,4-methylenedioxy-methamphetamine ("ecstasy") use history: correlation with dopamine receptor sensitivity. *Psychiatry research*, 120(2), 115–124.
- Gesi, M., Ferrucci, M., Giusiani, M., Lenzi, P., Lazzeri, G., Alessandrì, M. G., Salvadorini, A., et al. (2004). Loud noise enhances nigrostriatal dopamine toxicity induced by MDMA in mice. *Microscopy research and technique*, 64(4), 297–303.
- Geusau, von, N. A., Stalenhoef, P., Huizinga, M., Snel, J., & Ridderinkhof, K. R. (2004). Impaired executive function in male MDMA ("ecstasy") users. *Psychopharmacology*, 175(3), 331–341.
- Gilhooly, T. C., & Daly, A. K. (2002). CYP2D6 deficiency, a factor in ecstasy related deaths. *British journal of clinical pharmacology*, 54(1), 69–70.
- Globus, M. Y., Busto, R., Lin, B., Schnippering, H., & Ginsberg, M. D. (1995). Detection of free radical activity during transient global ischemia and recirculation: effects of intraschemic brain temperature modulation. *Journal of neurochemistry*, 65(3), 1250–1256.
- Gobert, A., Rivet, J. M., Lejeune, F., Newman-Tancredi, A., Adhumeau-Auclair, A., Nicolas, J. P., Cistarelli, L., et al. (2000). Serotonin(2C) receptors tonically suppress the activity of

- mesocortical dopaminergic and adrenergic, but not serotonergic, pathways: a combined dialysis and electrophysiological analysis in the rat. *Synapse*, 36(3), 205–221.
- Goni-Allo, B., O Mathúna, B., Segura, M., Puerta, E., Lasheras, B., la Torre, de, R., & Aguirre, N. (2008). The relationship between core body temperature and 3,4-methylenedioxymethamphetamine metabolism in rats: implications for neurotoxicity. *Psychopharmacology*, 197(2), 263–278.
- Goodwin, A. K., Pynnonen, D. M., & Baker, Lisa E. (2003). Serotonergic-dopaminergic mediation of MDMA's discriminative stimulus effects in a three-choice discrimination. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 74(4), 987–995.
- Gorard, D. A., Davies, S. E., & Clark, M. L. (1992). Misuse of ecstasy *BMJ (Clinical research ed)*, 305(6848), 309.
- Gordon, C. J., & Fogelson, L. (1994). Metabolic and thermoregulatory responses of the rat maintained in acrylic or wire-screen cages: implications for pharmacological studies. *Physiology & behavior*, 56(1), 73–79.
- Gordon, C., Watkinson, W., O'Callaghan, J., & Miller, D. (1991). Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on autonomic thermoregulatory responses of the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38(2), 339–344.
- Gough, B., Ali, S., Slikkerjr, W., & Holson, R. (1991). Acute effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on monoamines in rat caudate. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 39(3), 619–623.
- Gouzoulis-Mayfrank, E., Daumann, J., Tuchtenhagen, F., Pelz, S., Becker, S., Kunert, H. J., Fimm, B., & Sass H. (2000). Impaired cognitive performance in drug free users of recreational ecstasy (MDMA). *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 68(6), 719–725.
- Gouzoulis-Mayfrank, Euphrosyne, Fischermann, T., Rezk, M., Thimm, B., Hensen, G., & Daumann, J. (2005). Memory performance in polyvalent MDMA (ecstasy) users who continue or discontinue MDMA use. *Drug and alcohol dependence*, 78(3), 317–323.
- Gouzoulis-Mayfrank, Euphrosyne, Thimm, B., Rezk, M., Hensen, G., & Daumann, Joerg. (2003). Memory impairment suggests hippocampal dysfunction in abstinent ecstasy users. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 27(5), 819–827.
- Gracy, K. N., Dankiewicz, L. A., Weiss, F., & Koob, G. F. (2000). Heroin-specific stimuli reinstate operant heroin-seeking behavior in rats after prolonged extinction. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 65(3), 489–494.
- Graeff, F. G. (1997). Serotonergic systems. *The Psychiatric clinics of North America*, 20(4), 723–739.
- Graeff, F. G., Viana, M. B., & Mora, P. O. (1997). Dual role of 5-HT in defense and anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 21(6), 791–799.
- Graham, Devon L, Herring, N. R., Schaefer, T. L., Vorhees, Charles V, & Williams, M. T. (2010). Glucose and corticosterone changes in developing and adult rats following exposure to (+/-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine or 5-methoxydiisopropyltryptamine. *Neurotoxicology and teratology*, 32(2), 152–157.
- Graham, Danielle L, Hoppenot, R., Hendryx, A., & Self, David W. (2007). Differential ability of D1 and D2 dopamine receptor agonists to induce and modulate expression and reinstatement of cocaine place preference in rats. *Psychopharmacology*, 191(3), 719–730.
- Granado, N., O'Shea, E., Bove, J., Vila, M., Colado, M. I., & Moratalla, R. (2008). Persistent MDMA-induced dopaminergic neurotoxicity in the striatum and substantia nigra of mice. *Journal of neurochemistry*, 107(4), 1102–1112.

Bibliografía.

- Granado, N., Ares-Santos, S., Oliva, I., O'Shea, E., Martin, E. D., Colado, M. I., & Moratalla, R. (2011). Dopamine D2-receptor knockout mice are protected against dopaminergic neurotoxicity induced by methamphetamine or MDMA. *Neurobiology of disease*, 42(3), 391–403.
- Grasing, K., He, S., & Li, Ning. (2005). Selegiline modifies the extinction of responding following morphine self-administration, but does not alter cue-induced reinstatement, reacquisition of morphine reinforcement, or precipitated withdrawal. *Pharmacological research*, 51(1), 69–78.
- Green, A R, Sanchez, V., O'Shea, E., Saadat, K. S., Elliott, J. M., & Colado, M. I. (2004a). Effect of ambient temperature and a prior neurotoxic dose of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on the hyperthermic response of rats to a single or repeated ("binge" ingestion) low dose of MDMA. *Psychopharmacology*, 173(3-4), 264–269.
- Green, A Richard, & McGregor, Iain S. (2002). On the anxiogenic and anxiolytic nature of long-term cerebral 5-HT depletion following MDMA. *Psychopharmacology*, 162(4), 448–450.
- Green, A Richard, Mehan, Annis O, Elliott, J Martin, O'Shea, Esther, & Colado, Maria Isabel. (2003). The pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy"). *Pharmacological reviews*, 55(3), 463–508.
- Green, A Richard, O'Shea, Esther, & Colado, M Isabel. (2004b). A review of the mechanisms involved in the acute MDMA (ecstasy)-induced hyperthermic response. *European journal of pharmacology*, 500(1-3), 3–13.
- Green, A Richard, O'Shea, Esther, Saadat, K. S., Elliott, J Martin, & Colado, M Isabel. (2005). Studies on the effect of MDMA ("ecstasy") on the body temperature of rats housed at different ambient room temperatures. *British Journal of Pharmacology*, 146(2), 306–312.
- Greer, G. (1992). Ecstasy and the dance of death *BMJ (Clinical research ed)*, 305(6856), 775.
- Greer, G. R., & Tolbert, R. (1998). A method of conducting therapeutic sessions with MDMA *Journal of psychoactive drugs*, 30(4), 371–379.
- Greer, G., & Strassman, R. J. (1985). Information on "Ecstasy" *The American journal of psychiatry*, 142(11), 1391.
- Greer, G., & Tolbert, R. (1986). Subjective reports of the effects of MDMA in a clinical setting. *Journal of psychoactive drugs*, 18(4), 319–327.
- Grinspoon, L., & Bakalar, J. B. (1986). Can drugs be used to enhance the psychotherapeutic process. *American journal of psychotherapy*, 40(3), 393–404.
- Grobin, A. C., & Deutch, A. Y. (1998). Dopaminergic regulation of extracellular gamma-aminobutyric acid levels in the prefrontal cortex of the rat. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 285(1), 350–357.
- Gross, R. (1996). Fluoxetine abuse. *Journal of clinical psychopharmacology*, 16(6), 467–468.
- GUAN, X. (1988). Fluoxetine increases the extracellular levels of serotonin in the nucleus accumbens. *Brain research bulletin*, 21(1), 43–46.
- Gudelsky, G A, & Nash, J F. (1996). Carrier-mediated release of serotonin by 3,4-methylenedioxymethamphetamine: implications for serotonin-dopamine interactions. *Journal of neurochemistry*, 66(1), 243–249.
- Gudelsky, Gary A, & Yamamoto, Bryan K. (2008). Actions of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on cerebral dopaminergic, serotonergic and cholinergic neurons. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 90(2), 198–207.

- Gudelsky, G. A., Yamamoto, B. K., & Nash, J. F. (1994). Potentiation of 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced dopamine release and serotonin neurotoxicity by 5-HT₂ receptor agonists. *European journal of pharmacology*, 264(3), 325–330.
- Gurtman, C. G., Morley, Kirsten C., Li, Kong M., Hunt, Glenn E., & McGregor, Iain S. (2002). Increased anxiety in rats after 3,4-methylenedioxymethamphetamine: association with serotonin depletion. *European journal of pharmacology*, 446(1-3), 89–96.
- Hagino Y, Takamatsu Y, Yamamoto H, Iwamura T, Murphy DL, Uhl GR, Sora I, Ikeda K (2011). Effects of MDMA on Extracellular Dopamine and Serotonin Levels in Mice Lacking Dopamine and/or Serotonin Transporters. *Curr Neuropharmacol*, 9(1):91-5.
- Hall, A. P., & Henry, J. A. (2006). Acute toxic effects of “Ecstasy” (MDMA) and related compounds: overview of pathophysiology and clinical management. *British Journal of Anaesthesia*, 96(6), 678–685.
- Hall, F. S., Li, X. F., Sora, I., Xu, F., Caron, M., Lesch, K. P., Murphy, D. L., et al. (2002). Cocaine mechanisms: enhanced cocaine, fluoxetine and nisoxetine place preferences following monoamine transporter deletions. *Neuroscience*, 115(1), 153–161.
- Halpern, J. H., Pope, H. G., Sherwood, A. R., Barry, S., Hudson, J. I., & Yurgelun-Todd, D. (2004). Residual neuropsychological effects of illicit 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in individuals with minimal exposure to other drugs. *Drug and alcohol dependence*, 75(2), 135–147.
- Halpern, J. H., Sherwood, A. R., Hudson, J. I., Gruber, S., Kozin, D., & Pope, H. G. (2011). Residual neurocognitive features of long-term ecstasy users with minimal exposure to other drugs. *Addiction*, 106(4), 777–786.
- Halpern, J., Sherwood, A., & Hudson, J. (2011). Reply to Parrot (2011), Fisk et al.(2011) and Rodgers et al.(2011). *Addiction*.
- Han, D. D., & Gu, H. H. (2006). Comparison of the monoamine transporters from human and mouse in their sensitivities to psychostimulant drugs. *BMC pharmacology*, 6, 6.
- Hannon, J., & Hoyer, D. (2008). Molecular biology of 5-HT receptors. *Behavioural brain research*, 195(1), 198–213.
- Hansen, J. P., Riddle, E. L., Sandoval, V., Brown, J. M., Gibb, J. W., Hanson, G. R., & Fleckenstein, A. E. (2002). Methylenedioxymethamphetamine decreases plasmalemmal and vesicular dopamine transport: mechanisms and implications for neurotoxicity. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 300(3), 1093–1100.
- Hanson, K. L., & Luciana, M. (2004). Neurocognitive function in users of MDMA: the importance of clinically significant patterns of use. *Psychological medicine*, 34(2), 229–246.
- Hanson, K. L., & Luciana, M. (2010). Neurocognitive impairments in MDMA and other drug users: MDMA alone may not be a cognitive risk factor. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 32(4), 337–349.
- Hanson, K. L., Luciana, M., & Sullwold, K. (2008). Reward-related decision-making deficits and elevated impulsivity among MDMA and other drug users. *Drug and alcohol dependence*, 96(1-2), 99–110.
- Haraguchi, M., Samson, H. H., & Tolliver, G. A. (1990). Reduction in oral ethanol self-administration in the rat by the 5-HT uptake blocker fluoxetine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 35(1), 259–262.
- Hasler, F., Studerus, E., Lindner, K., Ludewig, S., & Vollenweider, F. X. (2009). Investigation of serotonin-1A receptor function in the human psychopharmacology of MDMA. *Journal of psychopharmacology*, 23(8), 923–935.

Bibliografía.

- Hatzidimitriou, G., McCann, U D, & Ricaurte, G A. (1999). Altered serotonin innervation patterns in the forebrain of monkeys treated with (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine seven years previously: factors influencing abnormal recovery. *The Journal of Neuroscience*, 19(12), 5096–5107.
- Heffernan, T M, Jarvis, H., Rodgers, J., Scholey, A B, & Ling, J. (2001b). Prospective memory, everyday cognitive failure and central executive function in recreational users of Ecstasy. *Human psychopharmacology*, 16(8), 607–612.
- Heffernan, T M, Ling, Jonathon, & Scholey, Andrew B. (2001a). Subjective ratings of prospective memory deficits in MDMA ("ecstasy") users. *Human psychopharmacology*, 16(4), 339–344.
- Heffner, T. G., Hartman, J. A., & Seiden, L. S. (1980). A rapid method for the regional dissection of the rat brain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 13(3), 453–456.
- Heidbreder, C. A., Thompson, A. C., & Shippenberg, T. S. (1996). Role of extracellular dopamine in the initiation and long-term expression of behavioral sensitization to cocaine. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 278(2), 490–502.
- Hekmatpanah, C. R., & Peroutka, S. J. (1990). 5-hydroxytryptamine uptake blockers attenuate the 5-hydroxytryptamine-releasing effect of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and related agents. *European journal of pharmacology*, 177(1-2), 95–98.
- Hemby, S. E., Co, C., Koves, T. R., Smith, J. E., & Dworkin, S. I. (1997). Differences in extracellular dopamine concentrations in the nucleus accumbens during response-dependent and response-independent cocaine administration in the rat. *Psychopharmacology*, 133(1), 7–16.
- Henry, J A. (1992). Ecstasy and the dance of death. *BMJ (Clinical research ed)*, 305(6844), 5–6.
- Henry, John A, Fallon, J. K., Kicman, A. T., Hutt, A. J., Cowan, D. A., & Forsling, M. (1998). Low-dose MDMA ("ecstasy") induces vasopressin secretion. *The Lancet*, 351(9118), 1784.
- Herin, D. V., Liu, S., Ullrich, T., Rice, Kenner C, & Cunningham, Kathryn A. (2005). Role of the serotonin 5-HT_{2A} receptor in the hyperlocomotive and hyperthermic effects of (+)-3,4-methylenedioxymethamphetamine. *Psychopharmacology*, 178(4), 505–513.
- Hernandez-Rabaza, V., Navarro-Mora, G., Velazquez-Sanchez, C., Ferragud, A., Marin, M. P., Garcia-Verdugo, J. M., Renau-Piqueras, J., et al. (2010). Neurotoxicity and persistent cognitive deficits induced by combined MDMA and alcohol exposure in adolescent rats. *Addiction biology*, 15(4), 413–423.
- Hertel, P., Nomikos, G. G., Iurlo, M., & Svensson, T. H. (1996). Risperidone: regional effects in vivo on release and metabolism of dopamine and serotonin in the rat brain. *Psychopharmacology*, 124(1-2), 74–86.
- Hervé, D., Pickel, V. M., Joh, T. H., & Beaudet, A. (1987). Serotonin axon terminals in the ventral tegmental area of the rat: fine structure and synaptic input to dopaminergic neurons. *Brain research*, 435(1-2), 71–83.
- Herzig, V., Capuani, E., Kovar, K.-A., & Schmidt, W. (2005). Effects of MPEP on expression of food-, MDMA- or amphetamine-conditioned place preference in rats. *Addiction biology*, 10(3), 243–249.
- Hewton, R., Salem, A., & Irvine, Rodney J. (2007). Potentiation of 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced 5-HT release in the rat substantia nigra by cloglyline, a monoamine oxidase A inhibitor. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 34(10), 1051–1057.
- Highfield, D., Clements, A., Shalev, U., McDonald, R., Featherstone, R., Stewart, J., & Shaham, Y. (2000). Involvement of the medial septum in stress-induced relapse to heroin seeking in rats. *The European journal of neuroscience*, 12(5), 1705–1713.

- Hiramatsu, M., & Cho, A. K. (1990). Enantiomeric differences in the effects of 3,4-methylenedioxyamphetamine on extracellular monoamines and metabolites in the striatum of freely-moving rats: an in vivo microdialysis study. *Neuropharmacology*, 29(3), 269–275.
- Ho, Y.-J., Pawlak, C. R., Guo, L., & Schwarting, R. K. W. (2004). Acute and long-term consequences of single MDMA administration in relation to individual anxiety levels in the rat. *Behavioural brain research*, 149(2), 135–144.
- Holland, J. (1999). Positron emission tomography findings in heavy users of MDMA. *Lancet*, 353(9152), 592–593.
- Holland, J. (2001). *Ecstasy: The complete guide: A comprehensive look at the risks and benefits of MDMA*.
- Homberg, J. R., Schiepers, O. J. G., Schoffelmeer, A. N. M., Cuppen, E., & Vanderschuren, L. J. M. J. (2007). Acute and constitutive increases in central serotonin levels reduce social play behaviour in peri-adolescent rats. *Psychopharmacology*, 195(2), 175–182.
- Horan, B., Gardner, E. L., & Ashby, C. R. (2000). Enhancement of conditioned place preference response to cocaine in rats following subchronic administration of 3, 4-methylenedioxyamphetamine (MDMA). *Synapse*, 35(2), 160–162.
- Huben, Von, S. N., Lay, C. C., Crean, R. D., Davis, S. A., Katner, S. N., & Taffe, M. A. (2007). Impact of ambient temperature on hyperthermia induced by (+/-)3,4-methylenedioxyamphetamine in rhesus macaques. *Neuropsychopharmacology*, 32(3), 673–681.
- Hubner, C. B., Bird, M., Rassnick, S., & Kornetsky, C. (1988). The threshold lowering effects of MDMA (ecstasy) on brain-stimulation reward. *Psychopharmacology*, 95(1), 49–51.
- Huether, G., Zhou, D., & Rüter, E. (1997). Causes and consequences of the loss of serotonergic presynapses elicited by the consumption of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA, “ecstasy”) and its congeners. *Journal of neural transmission*, 104(8-9), 771–794.
- Huizink, A. C., Ferdinand, R. F., van der Ende, J., & Verhulst, F. C. (2006). Symptoms of anxiety and depression in childhood and use of MDMA: prospective, population based study. *BMJ (Clinical research ed)*, 332(7545), 825–828.
- Hyman, S. E., Malenka, R. C., & Nestler, Eric J. (2006). Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annual review of neuroscience*, 29, 565–598.
- Hysek, C. M., Simmler, L. D., Ineichen, M., Grouzmann, E., Hoener, M. C., Brenneisen, R., Huwyler, J., et al. (2011). The Norepinephrine Transporter Inhibitor Reboxetine Reduces Stimulant Effects of MDMA (“Ecstasy”) in Humans. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 90(2), 246–255.
- Ikemoto, Satoshi, & Donahue, K. M. (2005). A five-minute, but not a fifteen-minute, conditioning trial duration induces conditioned place preference for cocaine administration into the olfactory tubercle. *Synapse*, 56(1), 57–59.
- Imperato, A., & Di Chiara, G. (1984). Trans-striatal dialysis coupled to reverse phase high performance liquid chromatography with electrochemical detection: a new method for the study of the in vivo release of endogenous dopamine and metabolites. *The Journal of neuroscience*, 4(4), 966–977.
- Insel, T. R., Battaglia, G., Johannessen, J. N., Marra, S., & De Souza, E. B. (1989). 3,4-Methylenedioxyamphetamine (“ecstasy”) selectively destroys brain serotonin terminals in rhesus monkeys. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 249(3), 713–720.

Bibliografía.

- Irvine, Rodney J, Keane, M., Felgate, P., McCann, U. D., Callaghan, P. D., & White, J. M. (2005). Plasma Drug Concentrations and Physiological Measures in "Dance Party" Participants. *Neuropsychopharmacology*, 31(2), 424–430.
- Itzhak, Y., & Achat-Mendes, C. (2004). Methamphetamine and MDMA (ecstasy) neurotoxicity: 'of mice and men'. *IUBMB life*, 56(5), 249–255.
- Itzhak, Y., Ali, Syed F, Achat, C. N., & Anderson, Karen L. (2003). Relevance of MDMA ("ecstasy")-induced neurotoxicity to long-lasting psychomotor stimulation in mice. *Psychopharmacology*, 166(3), 241–248.
- Izco, M., Marchant, I., Escobedo, I., Peraile, I., Delgado, M., Higuera-Matas, A., Olias, O., et al. (2007). Mice with decreased cerebral dopamine function following a neurotoxic dose of MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine, "Ecstasy") exhibit increased ethanol consumption and preference. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 322(3), 1003–1012.
- Jacobs, B. L., & Azmitia, E. C. (1992). Structure and function of the brain serotonin system. *Physiological reviews*, 72(1), 165–229.
- Jacobs, E. H., Smit, A. B., de Vries, T. J., & Schoffelmeer, A. N. M. (2005). Long-term gene expression in the nucleus accumbens following heroin administration is subregion-specific and depends on the nature of drug administration. *Addiction biology*, 10(1), 91–100.
- Jacobsen, L. K., Mencl, W. E., Pugh, K. R., Skudlarski, P., & Krystal, John H. (2004). Preliminary evidence of hippocampal dysfunction in adolescent MDMA ("ecstasy") users: possible relationship to neurotoxic effects. *Psychopharmacology*, 173(3-4), 383–390.
- Jaeger, T. V., & der Kooy, van, D. (1996). Separate neural substrates mediate the motivating and discriminative properties of morphine. *Behavioral neuroscience*, 110(1), 181–201.
- Jaehne, E. J., Salem, A., & Irvine, Rodney James. (2008). The effect of long-term repeated exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine on cardiovascular and thermoregulatory changes. *Psychopharmacology*, 201(2), 161–170.
- Johansen, P. Ø., & Krebs, T. S. (2009). How could MDMA (ecstasy) help anxiety disorders? A neurobiological rationale. *Journal of Psychopharmacology*, 23(4), 389–391.
- Johnson, Elizabeth Anne, Shvedova, A. A., Kisin, E., O'Callaghan, J. P., Kommineni, C., & Miller, D. B. (2002a). d-MDMA during vitamin E deficiency: effects on dopaminergic neurotoxicity and hepatotoxicity. *Brain research*, 933(2), 150–163.
- Johnson, Elizabeth Anne, O'Callaghan, James P, & Miller, Diane B. (2002b). Chronic treatment with supraphysiological levels of corticosterone enhances D-MDMA-induced dopaminergic neurotoxicity in the C57BL/6J female mouse. *Brain research*, 933(2), 130–138.
- Johnson, Elizabeth Anne, O'Callaghan, James P, & Miller, Diane B. (2004). Brain concentrations of d-MDMA are increased after stress *Psychopharmacology*, 173(3-4), 278–286.
- Johnson, E A, Sharp, D S, & Miller, D B. (2000). Restraint as a stressor in mice: against the dopaminergic neurotoxicity of D-MDMA, low body weight mitigates restraint-induced hypothermia and consequent neuroprotection. *Brain research*, 875(1-2), 107–118.
- Johnson, M., Letter, A. A., Merchant, K., Hanson, G. R., & Gibb, J. W. (1988). Effects of 3,4-methylenedioxyamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine isomers on central serotonergic, dopaminergic and nigral neurotensin systems of the rat. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 244(3), 977–982.
- Jones, B C, Ben-Hamida, S., de Vasconcelos, A. P., Kelche, C., Lazarus, C., Jackisch, R., & Cassel, J. C. (2010). Effects of ethanol and ecstasy on conditioned place preference in the rat. *Journal of psychopharmacology*, 24(2), 275–279.

- Jones, Douglas C, Duvauchelle, C., Ikegami, A., Olsen, C. M., Lau, S. S., la Torre, de, R., & Monks, T. J. (2005). Serotonergic neurotoxic metabolites of ecstasy identified in rat brain. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 313(1), 422–431.
- Kalant, H. (2001). The pharmacology and toxicology of “ecstasy” (MDMA) and related drugs. *Canadian Medical Association journal*, 165(7), 917–928.
- Kalivas, P W, & Duffy, P. (1993). Time course of extracellular dopamine and behavioral sensitization to cocaine. I. Dopamine axon terminals. *The Journal of neuroscience*, 13(1), 266–275.
- Kalivas, Peter W, & O'Brien, C. (2008). Drug addiction as a pathology of staged neuroplasticity. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 166–180.
- Kalivas, Peter W, & Volkow, Nora D. (2005). The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *The American journal of psychiatry*, 162(8), 1403–1413.
- Kalivas, P W, Duffy, P., & White, S. R. (1998). MDMA elicits behavioral and neurochemical sensitization in rats. *Neuropsychopharmacology*, 18(6), 469–479.
- Kankaanpää, Aino, Meririnne, Esa, & Seppälä, Timo. (2002). 5-HT₃ receptor antagonist MDL 72222 attenuates cocaine- and mazindol-, but not methylphenidate-induced neurochemical and behavioral effects in the rat. *Psychopharmacology*, 159(4), 341–350.
- Kankaanpää, A, Meririnne, E, Lillsunde, P., & Seppälä, T. (1998). The acute effects of amphetamine derivatives on extracellular serotonin and dopamine levels in rat nucleus accumbens. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 59(4), 1003–1009.
- Kapur, S., & Mamo, D. (2003). Half a century of antipsychotics and still a central role for dopamine D2 receptors. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 27(7), 1081–1090.
- Karlsen, S. N., Spigset, O., & Slørdal, L. (2008). The dark side of ecstasy: neuropsychiatric symptoms after exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 102(1), 15–24.
- Kasai, M., Shioda, K., Nisijima, K., Yoshino, T., Iwamura, T., & Kato, S. (2011). The effects of mirtazapine and fluoxetine on hyperthermia induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in rats. *Neuroscience letters*, 499(1), 24–27.
- Kauer, J. A., & Malenka, R. C. (2007). Synaptic plasticity and addiction. *Nature reviews Neuroscience*, 8(11), 844–858.
- Kay, C., Harper, D N, & Hunt, M. (2010). Differential effects of MDMA and scopolamine on working versus reference memory in the radial arm maze task. *Neurobiology of learning and memory*, 93(2), 151–156.
- Kay, C., Harper, D N, & Hunt, M. (2011). The effects of binge MDMA on acquisition and reversal learning in a radial-arm maze task. *Neurobiology of learning and memory*, 95(4), 473–483.
- Kehne, J. H., Ketteler, H. J., McCloskey, T. C., Sullivan, C. K., Dudley, M. W., & Schmidt, C. J. (1996). Effects of the selective 5-HT_{2A} receptor antagonist MDL 100,907 on MDMA-induced locomotor stimulation in rats. *Neuropsychopharmacology*, 15(2), 116–124.
- Kehr, J., Ichinose, F., Yoshitake, S., Goiny, M., Sievertsson, T., Nyberg, F., & Yoshitake, T. (2011). Mephedrone, compared to MDMA (ecstasy) and amphetamine, rapidly increases both dopamine and serotonin levels in nucleus accumbens of awake rats. *British Journal of Pharmacology*.
- Keiflin, R., Vouillac, C., & Cador, M. (2008). Level of operant training rather than cocaine intake predicts level of reinstatement. *Psychopharmacology*, 197(2), 247–261.

Bibliografía.

- Kelley, J. B., Anderson, Karen L, & Itzhak, Y. (2007). Long-term memory of cocaine-associated context: disruption and reinstatement. *Neuroreport*, 18(8), 777–780.
- Kelly, P. A. T., Ritchie, I. M., Quate, L., McBean, D. E., & Olverman, Henry J. (2002). Functional consequences of perinatal exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine in rat brain. *British Journal of Pharmacology*, 137(7), 963–970.
- Kennett GA: 5-HT1C receptors and their therapeutic relevance. *Curr Opin Invest Drugs* 1993; 2:317-362.
- Kil, H. Y., Zhang, Jing, & Piantadosi, C. A. (1996). Brain Temperature Alters Hydroxyl Radical Production During Cerebral Ischemia/Reperfusion in Rats. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 16(1), 100–106.
- Kim, J. A., Pollak, K. A., Hjelmstad, G. O., & Fields, H. L. (2004). A single cocaine exposure enhances both opioid reward and aversion through a ventral tegmental area-dependent mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(15), 5664–5669.
- Kindlundh-Högberg, A. M. S., Schiöth, H. B., & Svenningsson, P. (2007). Repeated intermittent MDMA binges reduce DAT density in mice and SERT density in rats in reward regions of the adolescent brain. *Neurotoxicology*, 28(6), 1158–1169.
- Kirkpatrick, M. G., Gunderson, E. W., Perez, A. Y., Haney, M., Foltin, R. W., & Hart, C. L. (2011). A direct comparison of the behavioral and physiological effects of methamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in humans. *Psychopharmacology*.
- Kish, S. J., Fitzmaurice, P. S., Chang, L. J., Furukawa, Y., & Tong, J. (2010). Low striatal serotonin transporter protein in a human polydrug MDMA (ecstasy) user: a case study. *Journal of psychopharmacology*, 24(2), 281–284.
- Kish, S. J., Furukawa, Y., Ang, L., Vorce, S. P., & Kalasinsky, K. S. (2000). Striatal serotonin is depleted in brain of a human MDMA (Ecstasy) user. *Neurology*, 55(2), 294–296.
- Kivell, B., Day, D., Bosch, P., Schenk, S., & Miller, J. (2010). MDMA causes a redistribution of serotonin transporter from the cell surface to the intracellular compartment by a mechanism independent of phospho-p38-mitogen activated protein kinase activation. *Neuroscience*, 168(1), 82–95.
- Klitzman, R. L., Pope, H. G., & Hudson, J. I. (2000). MDMA (“Ecstasy”) abuse and high-risk sexual behaviors among 169 gay and bisexual men. *The American journal of psychiatry*, 157(7), 1162–1164.
- Kobeissy, F. H., Jeung, J. A., Warren, M. W., Geier, J. E., & Gold, M. S. (2008). Changes in leptin, ghrelin, growth hormone and neuropeptide-Y after an acute model of MDMA and methamphetamine exposure in rats. *Addiction biology*, 13(1), 15–25.
- Koch, S., & Galloway, M. P. (1997). MDMA induced dopamine release in vivo: role of endogenous serotonin. *Journal of neural transmission*, 104(2-3), 135–146.
- Koenig, J., Lazarus, C., Jeltsch, H., Ben Hamida, S., Riegert, C., Kelche, C., Jones, B. C., et al. (2005). MDMA (ecstasy) effects in pubescent rats: Males are more sensitive than females. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 81(3), 635–644.
- Kolbrich, E. A., Goodwin, R. S., Gorelick, D. A., Hayes, R. J., Stein, E. A., & Huestis, M. A. (2008). Physiological and subjective responses to controlled oral 3,4-methylenedioxymethamphetamine administration. *Journal of clinical psychopharmacology*, 28(4), 432–440.
- Koprach, J. B., Chen, E.-Y., Kanaan, N. M., Campbell, N. G., Kordower, J. H., & Lipton, J. W. (2003a). Prenatal 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) alters exploratory

- behavior, reduces monoamine metabolism, and increases forebrain tyrosine hydroxylase fiber density of juvenile rats. *Neurotoxicology and teratology*, 25(5), 509–517.
- Koprach, J. B., Campbell, N. G., & Lipton, J. W. (2003b). Neonatal 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) alters dopamine and serotonin neurochemistry and increases brain-derived neurotrophic factor in the forebrain and brainstem of the rat. *Brain research Developmental brain research*, 147(1-2), 177–182.
- Kovács, G G, Andó, R. D., Adori, C., Kirilly, E., Benedek, A., Palkovits, M., & Bagdy, G. (2007). Single dose of MDMA causes extensive decrement of serotonergic fibre density without blockage of the fast axonal transport in Dark Agouti rat brain and spinal cord. *Neuropathology and applied neurobiology*, 33(2), 193–203.
- Kreibich, A. S., & Blendy, J. A. (2004). cAMP response element-binding protein is required for stress but not cocaine-induced reinstatement. *The Journal of neuroscience*, 24(30), 6686–6692.
- Krystal, J H, Price, L. H., Opsahl, C., Ricaurte, G A, & Heninger, G. R. (1992). Chronic 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) use: effects on mood and neuropsychological function. *The American journal of drug and alcohol abuse*, 18(3), 331–341.
- Kuhar, M. J., & Pilotte, N. S. (1996). Neurochemical changes in cocaine withdrawal. *Trends in pharmacological sciences*, 17(7), 260–264.
- Kuypers, Kim P C, & Ramaekers, Jan G. (2005). Transient memory impairment after acute dose of 75mg 3,4-Methylene-dioxymethamphetamine. *Journal of Psychopharmacology*, 19(6), 633–639.
- Kuypers, Kim P C, & Ramaekers, Johannes G. (2007). Acute dose of MDMA (75 mg) impairs spatial memory for location but leaves contextual processing of visuospatial information unaffected. *Psychopharmacology*, 189(4), 557–563.
- Kuypers, K P C, Wingen, M., & Ramaekers, J G. (2008). Memory and mood during the night and in the morning after repeated evening doses of MDMA. *Journal of Psychopharmacology*, 22(8), 895–903.
- Kuypers, K P C, Wingen, M., Samyn, N., Limbert, N., & Ramaekers, J G. (2007). Acute effects of nocturnal doses of MDMA on measures of impulsivity and psychomotor performance throughout the night. *Psychopharmacology*, 192(1), 111–119.
- La Garza, De, R., Fabrizio, K. R., & Gupta, A. (2007). Relevance of rodent models of intravenous MDMA self-administration to human MDMA consumption patterns. *Psychopharmacology*, 189(4), 425–434.
- Lamb, R. J., & Griffiths, R. R. (1987). Self-injection of d,1-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in the baboon. *Psychopharmacology*, 91(3), 268–272.
- Lamers, C. T. J., Bechara, A., Rizzo, M., & Ramaekers, J G. (2006). Cognitive function and mood in MDMA/THC users, THC users and non-drug using controls. *Journal of Psychopharmacology*, 20(2), 302–311.
- Landabaso, M. A., Iraurgi, I., Jiménez-Lerma, J. M., Calle, R., Sanz, J., & Gutiérrez-Fraile, M. (2002). Ecstasy-induced psychotic disorder: six-month follow-up study. *European addiction research*, 8(3), 133–140.
- Lauder, J. M. (1990). Ontogeny of the serotonergic system in the rat: serotonin as a developmental signal. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 600, 297–313.
- Lavelle, A., Honner, V., & Docherty, J R. (1999). Investigation of the prejunctional α 2-adrenoceptor mediated actions of MDMA in rat atrium and vas deferens. *British Journal of Pharmacology*, 128(5), 975–980.

Bibliografia.

- Laviola, G., Adriani, W., Terranova, M. L., & Gerra, G. (1999). Psychobiological risk factors for vulnerability to psychostimulants in human adolescents and animal models. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23(7), 993–1010.
- Laviola, Giovanni, Macrì, S., Morley-Fletcher, S., & Adriani, Walter. (2003). Risk-taking behavior in adolescent mice: psychobiological determinants and early epigenetic influence. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27(1-2), 19–31.
- Lawley, S., & Kantak, K. (1990). Postconditioning effects of magnesium on cocaine conditioned place preference in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 36(3), 531–538.
- Lee, K., & Kornetsky, C. (1998). Acute and chronic fluoxetine treatment decreases the sensitivity of rats to rewarding brain stimulation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 60(2), 539–544.
- Leonardi, E. T., & Azmitia, E. C. (1994). MDMA (ecstasy) inhibition of MAO type A and type B: comparisons with fenfluramine and fluoxetine (Prozac). *Neuropsychopharmacology*, 10(4), 231–238.
- Leri, F., & Rizos, Z. (2005). Reconditioning of drug-related cues: a potential contributor to relapse after drug reexposure. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 80(4), 621–630.
- Leung, K. S., & Cottler, L. B. (2008). Ecstasy and other club drugs: a review of recent epidemiologic studies. *Current opinion in psychiatry*, 21(3), 234–241.
- Leung, K. S., Ben Abdallah, A., Copeland, J., & Cottler, L. B. (2010). Modifiable risk factors of ecstasy use: risk perception, current dependence, perceived control, and depression. *Addictive behaviors*, 35(3), 201–208.
- Lew R, Sabol KE, Chou C, Vosmer GL, Richards J, Seiden LS. (1996). Methylenedioxymethamphetamine-induced serotonin deficits are followed by partial recovery over a 52-week period. Part II: Radioligand binding and autoradiography studies. *Journal of Pharmacology and experimental therapeutics*, 1996 Feb;276(2):855-65.
- Lê, A. D., Funk, D., Harding, S., Juzysch, W., Fletcher, P. J., & Shaham, Y. (2006). Effects of dexfenfluramine and 5-HT₃ receptor antagonists on stress-induced reinstatement of alcohol seeking in rats. *Psychopharmacology*, 186(1), 82–92.
- Li, Yi, Liu, X., Chen, H., Deng, H., Xiang, X., Chen, H., & Hao, W. (2007). Development, extinction and reinstatement of morphine withdrawal-induced conditioned place aversion in rats. *Addiction biology*, 12(3-4), 470–477.
- Liao, R. M., Chang, Y. H., & Wang, S H. (1998). Influence of SCH23390 and spiperone on the expression of conditioned place preference induced by d-amphetamine or cocaine in the rat. *The Chinese journal of physiology*, 41(2), 85–92.
- Lidsky, T. I., & Banerjee, S. P. (1993). Acute administration of haloperidol enhances dopaminergic transmission. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 265(3), 1193–1198.
- Lieb, R., Schuetz, C. G., Pfister, H., Sydow, von, K., & Wittchen, H. (2002). Mental disorders in ecstasy users: a prospective-longitudinal investigation. *Drug and alcohol dependence*, 68(2), 195–207.
- Liechti, M E, & Vollenweider, F X. (2000a). Acute psychological and physiological effects of MDMA (“Ecstasy”) after haloperidol pretreatment in healthy humans. *European Neuropsychopharmacology*, 10(4), 289–295.
- Liechti, M E, & Vollenweider, F X. (2000b). The serotonin uptake inhibitor citalopram reduces acute cardiovascular and vegetative effects of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (“Ecstasy”) in healthy volunteers. *Journal of Psychopharmacology*, 14(3), 269–274.

- Liechti, M E, & Vollenweider, F X. (2001). Which neuroreceptors mediate the subjective effects of MDMA in humans? A summary of mechanistic studies. *Human psychopharmacology*, 16(8), 589–598.
- Liechti, M E, Baumann, C, Gamma, A., & Vollenweider, F X. (2000a). Acute psychological effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "Ecstasy") are attenuated by the serotonin uptake inhibitor citalopram. *Neuropsychopharmacology*, 22(5), 513–521.
- Liechti, M E, Gamma, A., & Vollenweider, F X. (2001). Gender differences in the subjective effects of MDMA. *Psychopharmacology*, 154(2), 161–168.
- Liechti, Matthias E, Kunz, I., & Kupferschmidt, H. (2005). Acute medical problems due to Ecstasy use. Case-series of emergency department visits. *Swiss medical weekly*, 135(43-44), 652–657.
- Liechti, M E, Saur, M. R., Gamma, A., Hell, D., & Vollenweider, F X. (2000b). Psychological and physiological effects of MDMA ("Ecstasy") after pretreatment with the 5-HT(2) antagonist ketanserin in healthy humans. *Neuropsychopharmacology*, 23(4), 396–404.
- Liestner, M. B., Grob, C. S., Bravo, G. L., & Walsh, R. N. (1992). Phenomenology and sequelae of 3,4-methylenedioxymethamphetamine use. *The Journal of nervous and mental disease*, 180(6), 345–54.
- Lile, J. A., Ross, J. T., & Nader, M. A. (2005). A comparison of the reinforcing efficacy of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") with cocaine in rhesus monkeys. *Drug and alcohol dependence*, 78(2), 135–140.
- Lim, H. K., Su, Z., & Foltz, R. L. (1993). Stereoselective disposition: enantioselective quantitation of 3,4-(methylenedioxy) methamphetamine and three of its metabolites by gas chromatography/electron capture negative ion chemical ionization mass spectrometry. *Biological mass spectrometry*, 22(7), 403–411.
- Lin, H. Q., Burden, P. M., Christie, M. J., & Johnston, G. A. (1999). The anxiogenic-like and anxiolytic-like effects of MDMA on mice in the elevated plus-maze: a comparison with amphetamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 62(3), 403–408.
- Lin, H. Q., Jackson, D. M., Atrens, D. M., Christie, M. J., & McGregor, I S. (1997). Serotonergic modulation of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA)-elicited reduction of response rate but not rewarding threshold in accumbal self-stimulation. *Brain research*, 744(2), 351–357.
- Liu, K., & Steketee, J. D. (2011). Repeated exposure to cocaine alters medial prefrontal cortex dopamine D₂-like receptor modulation of glutamate and dopamine neurotransmission within the mesocorticolimbic system. *Journal of neurochemistry*, 119(2), 332–341.
- Logan, B. J., Laverty, R., Sanderson, W. D., & Yee, Y. B. (1988). Differences between rats and mice in MDMA (methylenedioxymethylamphetamine) neurotoxicity. *European journal of pharmacology*, 152(3), 227–234.
- López-Muñoz, F., & Rubio, G. (2004). Éxtasis (3, 4-metilendioximetanfetamina, MDMA): aspectos farmacológicos, clínicos y criminológicos.
- Lu, Lin, Chen, H., Su, W., Ge, X., Yue, W., Su, F., & Ma, L. (2005). Role of withdrawal in reinstatement of morphine-conditioned place preference. *Psychopharmacology*, 181(1), 90–100.
- Lu, L, Ceng, X., & Huang, M. (2000a). Corticotropin-releasing factor receptor type I mediates stress-induced relapse to opiate dependence in rats. *Neuroreport*, 11(11), 2373–2378.
- Lu, L, Liu, D., & Ceng, X. (2001). Corticotropin-releasing factor receptor type 1 mediates stress-induced relapse to cocaine-conditioned place preference in rats. *European journal of pharmacology*, 415(2-3), 203–208.

Bibliografía.

- Lu, L., Liu, D., Geng, X., & Ma, L. (2000b). Differential roles of corticotropin-releasing factor receptor subtypes 1 and 2 in opiate withdrawal and in relapse to opiate dependence. *The European journal of neuroscience*, 12(12), 4398–4404.
- Lu, Lin, Shepard, J. D., Hall, F Scott, & Shaham, Yavin. (2003). Effect of environmental stressors on opiate and psychostimulant reinforcement, reinstatement and discrimination in rats: a review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 27(5), 457–491.
- Lu, Lin, Zhang, Ben, Liu, Z., & Zhang, Zhanyin. (2002). Reactivation of cocaine conditioned place preference induced by stress is reversed by cholecystokinin-B receptors antagonist in rats. *Brain research*, 954(1), 132–140.
- Lucas, G., & Spampinato, U. (2000). Role of striatal serotonin2A and serotonin2C receptor subtypes in the control of in vivo dopamine outflow in the rat striatum. *Journal of neurochemistry*, 74(2), 693–701.
- Lucas G, De Deurwaerdère P, Porrás G, Spampinato U. (2000a). Endogenous serotonin enhances the release of dopamine in the striatum only when nigro-striatal dopaminergic transmission is activated. *Neuropharmacology*, 23;39(11):1984-95.
- Lucas, G., De Deurwaerdere, P., Caccia, S., & Umberto Spampinato. (2000b). The effect of serotonergic agents on haloperidol-induced striatal dopamine release in vivo: opposite role of 5-HT(2A) and 5-HT(2C) receptor subtypes and significance of the haloperidol dose used. *Neuropharmacology*, 39(6), 1053–1063.
- Luna, B., & Sweeney, J. (2001). Studies of Brain and Cognitive Maturation Through Childhood and Adolescence: A Strategy for Testing Neurodevelopmental Hypotheses. *Schizophrenia bulletin*;27(3):443-55.
- Lyles, J., & Cadet, J. L. (2003). Methylenedioxymethamphetamine (MDMA, Ecstasy) neurotoxicity: cellular and molecular mechanisms. *Brain research reviews*, 42(2), 155–168.
- Lyvers, M. (2011). Commentary on Halpern et al. (2011): strengthening the case against functionally significant serotonergic neurotoxicity in human MDMA (ecstasy) users. *Addiction*, 106(4), 787–788.
- Lyvers, M., & Hasking, P. (2004). Have Halpern et al. (2004) detected “residual neuropsychological effects” of MDMA? Not likely. *Drug and alcohol dependence*, 75(2), 149–53.
- MacInnes, N., Handley, S. L., & Harding, G. F. (2001). Former chronic methylenedioxymethamphetamine (MDMA or ecstasy) users report mild depressive symptoms. *Journal of Psychopharmacology*, 15(3), 181–186.
- Maj, J., Wedzony, K., & Klimek, V. (1987). Desipramine given repeatedly enhances behavioural effects of dopamine and d-amphetamine injected into the nucleus accumbens. *European journal of pharmacology*, 140(2), 179–185.
- Malberg, J. E., & Seiden, L. S. (1998). Small changes in ambient temperature cause large changes in 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA)-induced serotonin neurotoxicity and core body temperature in the rat. *The Journal of neuroscience*, 18(13), 5086–5094.
- Malberg, J. E., Sabol, K. E., & Seiden, L. S. (1996). Co-administration of MDMA with drugs that protect against MDMA neurotoxicity produces different effects on body temperature in the rat. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 278(1), 258–267.
- Maldonado, C, Rodríguez-Arias, M., Castillo, A, Aguilar, M A, & Miñarro, J. (2006). Gamma-hydroxybutyric acid affects the acquisition and reinstatement of cocaine-induced conditioned place preference in mice. *Behavioural pharmacology*, 17(2), 119–131.
- Maldonado, C, Rodríguez-Arias, M., Castillo, A, Aguilar, M A, & Miñarro, J. (2007). Effect of memantine and CNQX in the acquisition, expression and reinstatement of cocaine-induced

- conditioned place preference. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 31(4), 932–939.
- Maldonado, Enrique, & Navarro, J F. (2000). Effects of 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) on anxiety in mice tested in the light-dark box. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 24(3), 463–472.
- Maldonado, Enrique, & Navarro, J F. (2001). MDMA (“ecstasy”) exhibits an anxiogenic-like activity in social encounters between male mice. *Pharmacological research*, 44(1), 27–31.
- Mallick, A., & Bodenham, A. R. (1997). MDMA induced hyperthermia: a survivor with an initial body temperature of 42.9 degrees C. *Journal of accident & emergency medicine*, 14(5), 336–338.
- Manzanedo, C, Rodríguez-Arias, M., Daza-Losada, M., Maldonado, C., Aguilar, M. A., & Miñarro, J. (2010). Effect of the CB1 cannabinoid agonist WIN 55212-2 on the acquisition and reinstatement of MDMA-induced conditioned place preference in mice. *Behavioral and brain functions*, 6, 19.
- Manzanedo, C, Aguilar, M A, Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, J. (2001b). Effects of dopamine antagonists with different receptor blockade profiles on morphine-induced place preference in male mice. *Behavioural brain research*, 121(1-2), 189–197.
- Manzanedo, C, Serrano, A., Aguilar, M A, Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, J. (2001a). Effects of CGS 10746B on hyperactivity and place preference induced by morphine. *Behavioural brain research*, 126(1-2), 23–32.
- Marchesi, C., Tonna, M., & Maggini, C. (2009). Obsessive-compulsive disorder followed by psychotic episode in long-term ecstasy misuse. *The world journal of biological psychiatry*, 10(4 Pt 2), 599–602.
- Margolis, J. (2001). Ecstasy's dividend. *Time*.
- Marie-Claire, C., Palminteri, S., Romualdi, P., & Noble, F. (2008). Effects of the selective neurotensin antagonist SR 142948A on 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced behaviours in mice. *Neuropharmacology*, 54(7), 1107–1111.
- Markou, A., Arroyo, M., & Everitt, B J. (1999). Effects of contingent and non-contingent cocaine on drug-seeking behavior measured using a second-order schedule of cocaine reinforcement in rats. *Neuropsychopharmacology*, 20(6), 542–555.
- Marlatt, G. A. (1996). Taxonomy of high-risk situations for alcohol relapse: evolution and development of a cognitive-behavioral model. *Addiction*, 91 Suppl, S37–49.
- Marona-Lewicka, D., Rhee, G. S., Sprague, J E, & Nichols, D E. (1996). Reinforcing effects of certain serotonin-releasing amphetamine derivatives. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 53(1), 99–105.
- Marston, H. M., Reid, M. E., Lawrence, J. A., Olverman, H J, & Butcher, S. P. (1999). Behavioural analysis of the acute and chronic effects of MDMA treatment in the rat. *Psychopharmacology*, 144(1), 67–76.
- Mas, M., Farre, M., la Torre, De, R., Roset, P. N., Ortuno, J., Segura, J., & Camí, J. (1999). Cardiovascular and neuroendocrine effects and pharmacokinetics of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine in humans. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 290(1), 136–145.
- Matthews, A. J., & Bruno, R. (2010). An investigation of factors associated with depressive symptoms among a sample of regular ecstasy consumers. *Neuropsychobiology*, 61(4), 215–222.

Bibliografia.

- Maurer, H. H., Bickeboeller-Friedrich, J., Kraemer, T., & Peters, F. T. (2000). Toxicokinetics and analytical toxicology of amphetamine-derived designer drugs ("Ecstasy"). *Toxicology letters*, 112-113, 133-142.
- Maxwell, D. L., Polkey, M. I., & Henry, J A. (1993). Hyponatraemia and catatonic stupor after taking "ecstasy". *BMJ (Clinical research ed)*, 307(6916), 1399.
- McBride, W. J., Murphy, J. M., & Ikemoto, S. (1999). Localization of brain reinforcement mechanisms: intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies. *Behavioural brain research*, 101(2), 129-152.
- McCann, Una D, Szabo, Z., Seckin, E., Rosenblatt, P., Mathews, W. B., Ravert, H. T., Dannals, R. F., et al. (2005). Quantitative PET studies of the serotonin transporter in MDMA users and controls using [11C]McN5652 and [11C]DASB. *Neuropsychopharmacology*, 30(9), 1741-1750.
- McCann, Una D, Szabo, Z., Vranesic, M., Palermo, M., Mathews, W. B., Ravert, H. T., Dannals, R. F., et al. (2008). Positron emission tomographic studies of brain dopamine and serotonin transporters in abstinent (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy") users: relationship to cognitive performance. *Psychopharmacology*, 200(3), 439-450.
- McCann, U D, & Ricaurte, G A. (1991). Lasting neuropsychiatric sequelae of (+-) methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy") in recreational users. *Journal of clinical psychopharmacology*, 11(5), 302-305.
- McCann, U D, & Ricaurte, G A. (1992). MDMA ("ecstasy") and panic disorder: induction by a single dose. *Biological psychiatry*, 32(10), 950-953.
- McCann, U D, & Ricaurte, G A. (1993). Reinforcing subjective effects of (+/-) 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy") may be separable from its neurotoxic actions: clinical evidence. *Journal of clinical psychopharmacology*, 13(3), 214-217.
- McCann, U D, Eligulashvili, V., Mertl, M., Murphy, D. L., & Ricaurte, G A. (1999b). Altered neuroendocrine and behavioral responses to m-chlorophenylpiperazine in 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) users. *Psychopharmacology*, 147(1), 56-65.
- McCann, U D, Mertl, M., Eligulashvili, V., & Ricaurte, G A. (1999a). Cognitive performance in (+/-) 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") users: a controlled study. *Psychopharmacology*, 143(4), 417-425.
- McCann, U D, Ridenour, A., Shaham, Y., & Ricaurte, G A. (1994). Serotonin neurotoxicity after (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA; "Ecstasy"): a controlled study in humans. *Neuropsychopharmacology*, 10(2), 129-138.
- McCann, U D, Slate, S. O., & Ricaurte, G A. (1996). Adverse reactions with 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA; "ecstasy"). *Drug safety*, 15(2), 107-115.
- McCann, U D, Szabo, Z., Scheffel, U., Dannals, R. F., & Ricaurte, G A. (1998). Positron emission tomographic evidence of toxic effect of MDMA ("Ecstasy") on brain serotonin neurons in human beings. *Lancet*, 352(9138), 1433-1437.
- McCreary, A. C., Bankson, M G, & Cunningham, K A. (1999). Pharmacological studies of the acute and chronic effects of (+)-3, 4-methylenedioxymethamphetamine on locomotor activity: role of 5-hydroxytryptamine(1A) and 5-hydroxytryptamine(1B/1D) receptors. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 290(3), 965-973.
- McCreary AC, Bankson MG, Cunningham KA. (1999). Pharmacological studies of the acute and chronic effects of (+)-3, 4-methylenedioxymethamphetamine on locomotor activity: role of 5-hydroxytryptamine(1A) and 5-hydroxytryptamine(1B/1D) receptors. *Journal of Pharmacology and experimental therapeutics*, 290(3):965-73.

- McElrath, K., & McEvoy, K. (2001). Fact, fiction, and function: mythmaking and the social construction of ecstasy use. *Substance use & misuse*, 36(1-2), 1–22.
- McFarland, K., & Ettenberg, A. (1997). Reinstatement of drug-seeking behavior produced by heroin-predictive environmental stimuli. *Psychopharmacology*, 131(1), 86–92.
- McGregor, Iain S, Clemens, K. J., der Plasse, Van, G., Li, K. M., Hunt, G. E., Chen, F., & Lawrence, A. J. (2003b). Increased anxiety 3 months after brief exposure to MDMA ("Ecstasy") in rats: association with altered 5-HT transporter and receptor density. *Neuropsychopharmacology*, 28(8), 1472–1484.
- McGregor, Iain S, Gurtman, C. G., Morley, K. C., Clemens, K. J., Blokland, A., Li, K. M., Cornish, J. L., et al. (2003a). Increased anxiety and "depressive" symptoms months after MDMA ("ecstasy") in rats: drug-induced hyperthermia does not predict long-term outcomes. *Psychopharmacology*, 168(4), 465–474.
- McGregor, I S, Callaghan, P D, & Hunt, G E. (2008). From ultrasocial to antisocial: a role for oxytocin in the acute reinforcing effects and long-term adverse consequences of drug use. *British Journal of Pharmacology*, 154(2), 358–368.
- McGuire, P. K., Cope, H., & Fahy, T. A. (1994). Diversity of psychopathology associated with use of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ('Ecstasy'). *The British journal of psychiatry*, 165(3), 391–395.
- McGuire, P., & Fahy, T. (1991). Chronic paranoid psychosis after misuse of MDMA ("ecstasy"). *BMJ (Clinical research ed)*, 302(6778), 697.
- McGuire, P., & Fahy, T. (1992). Flashbacks following MDMA *The British journal of psychiatry*, 160, 276.
- McLane, M. W., McCann, Una, & Ricaurte, George. (2011). Identifying the serotonin transporter signal in Western blot studies of the neurotoxic potential of MDMA and related drugs. *Synapse*, 65(12):1368-72.
- McNamara, M. G., Kelly, J. P., & Leonard, B. E. (1995). Some behavioural and neurochemical aspects of subacute (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine administration in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 52(3), 479–484.
- Mechan, Annis, Yuan, J., Hatzidimitriou, G., Irvine, R. J., McCann, U. D., & Ricaurte, G. A. (2006). Pharmacokinetic profile of single and repeated oral doses of MDMA in squirrel monkeys: relationship to lasting effects on brain serotonin neurons. *Neuropsychopharmacology*, 31(2), 339–350.
- Mechan, Annis O, Esteban, Blanca, O'Shea, E., Elliott, J. M., Colado, M. I., & Green, A. R. (2002a). The pharmacology of the acute hyperthermic response that follows administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") to rats. *British Journal of Pharmacology*, 135(1), 170–180.
- Mechan, Annis O, Moran, P. M., Elliott, M., Young, A. J., Joseph, M. H., & Green, R. (2002b). A comparison between Dark Agouti and Sprague-Dawley rats in their behaviour on the elevated plus-maze, open-field apparatus and activity meters, and their response to diazepam. *Psychopharmacology*, 159(2), 188–195.
- Mechan, Annis O, Moran, P. M., Elliott, M., Young, A. J., Joseph, M. H., & Green, R. (2002c). A study of the effect of a single neurotoxic dose of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA; "ecstasy") on the subsequent long-term behaviour of rats in the plus maze and open field. *Psychopharmacology*, 159(2), 167–175.
- Mechan, A O, O'Shea, E, Elliott, J M, Colado, Maria Isabel, & Green, A R. (2001). A neurotoxic dose of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA; ecstasy) to rats results in a long-term defect in thermoregulation. *Psychopharmacology*, 155(4), 413–418.

Bibliografía.

- Meisel, C., Gerloff, T., Kirchheiner, J., Mrozkiewicz, P. M., Niewinski, P., Brockmüller, J., & Roots, I. (2003). Implications of pharmacogenetics for individualizing drug treatment and for study design. *Journal of molecular medicine* (Berlin, Germany), 81(3), 154–167.
- Menard, J., & Treit, D. (1999). Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal models of anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23(4), 591–613.
- Menecier, P., Menecier-Ossia, L., & Bern, P. (1997). Fluoxetine dependence and tolerance. Apropos of a case. *L'Encéphale*, 23(5), 400–401.
- Meneses, A. (1999). 5-HT system and cognition. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23(8), 1111–1125.
- Meneses, Alfredo, Perez-Garcia, G., Ponce-Lopez, T., Tellez, R., & Castillo, Carlos. (2011). Serotonin transporter and memory. *Neuropharmacology*, 61(3), 355–363.
- Meyer, A., Mayerhofer, A., Kovar, K.-A., & Schmidt, W. J. (2002). Rewarding effects of the optical isomers of 3,4-methylenedioxy-methylamphetamine ('Ecstasy') and 3,4-methylenedioxy-ethylamphetamine ("Eve") measured by conditioned place preference in rats. *Neuroscience letters*, 330(3), 280–284.
- Meyer, J. S., & Ali, Syed F. (2002). Serotonergic neurotoxicity of MDMA (ecstasy) in the developing rat brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 965, 373–380.
- Meyer, J. S., Brevard, M. E., Piper, B. J., Ali, Syed F, & Ferris, C. F. (2006). Neural effects of MDMA as determined by functional magnetic resonance imaging and magnetic resonance spectroscopy in awake marmoset monkeys. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1074, 365–376.
- Meyer, J. S., Grande, M., Johnson, K., & Ali, Syed F. (2004). Neurotoxic effects of MDMA ("ecstasy") administration to neonatal rats. *International journal of developmental neuroscience*, 22(5-6), 261-71.
- Meyer, J. S., Piper, B. J., & Vancollie, V. E. (2008). Development and characterization of a novel animal model of intermittent MDMA ("Ecstasy") exposure during adolescence. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1139, 151–163.
- Milani, Raffaella M, Parrott, Andy C, Turner, John J D, & Fox, Helen C. (2004). Gender differences in self-reported anxiety, depression, and somatization among ecstasy/MDMA polydrug users, alcohol/tobacco users, and nondrug users. *Addictive behaviors*, 29(5), 965–971.
- Miller, D B, & O'Callaghan, J P. (1994). Environment-, drug- and stress-induced alterations in body temperature affect the neurotoxicity of substituted amphetamines in the C57BL/6J mouse. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 270(2), 752–760.
- Miller, K. J., King, A., Demchyshyn, L., Niznik, H., & Teitler, M. (1992). Agonist activity of sumatriptan and metergoline at the human 5-HT_{1D} beta receptor: further evidence for a role of the 5-HT_{1D} receptor in the action of sumatriptan. *European journal of pharmacology*, 227(1), 99–102.
- Mills, E. M., Banks, Matthew L, Sprague, Jon E, & Finkel, T. (2003). Pharmacology: Uncoupling the agony from ecstasy. *Nature*, 426(6965), 403–404.
- Milroy, C. M. (1999). Ten years of 'ecstasy' *Journal of the Royal Society of Medicine*, 92(2), 68–72.
- Mithani, S., Martin-Iverson, M. T., Phillips, A. G., & Fibiger, H. C. (1986). The effects of haloperidol on amphetamine- and methylphenidate-induced conditioned place preferences and locomotor activity. *Psychopharmacology*, 90(2), 247–252.
- Mithoefer, M. C., Wagner, M. T., Mithoefer, A. T., Jerome, L., & Doblin, R. (2011). The safety and efficacy of (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine-assisted psychotherapy in

- subjects with chronic, treatment-resistant posttraumatic stress disorder: the first randomized controlled pilot study. *Journal of psychopharmacology*, 25(4), 439–452.
- Modi, G. M., Yang, P. B., Swann, A. C., & Dafny, N. (2006). Chronic exposure to MDMA (Ecstasy) elicits behavioral sensitization in rats but fails to induce cross-sensitization to other psychostimulants. *Behavioral and brain functions*, 2, 1.
- Molliver, M. E., Berger, U. V., Mamounas, L. A., Molliver, D. C., O'Hearn, E., & Wilson, M. A. (1990). Neurotoxicity of MDMA and related compounds: anatomic studies. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 600, 649–64.
- Montgomery, Catharine, Fisk, John E, Newcombe, R., & Murphy, Phillip N. (2005). The differential effects of ecstasy/polydrug use on executive components: shifting, inhibition, updating and access to semantic memory. *Psychopharmacology*, 182(2), 262–276.
- Montgomery, T, Buon, C., Eibauer, S., Guiry, P. J., Keenan, A. K., & McBean, G. J. (2007). Comparative potencies of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA) analogues as inhibitors of [3H]noradrenaline and [3H]5-HT transport in mammalian cell lines. *British Journal of Pharmacology*, 152(7), 1121–1130.
- Moreno-Sanz G, O'Shea E, Orio L, Escobedo I, González-Cuevas G, Navarro M, Colado MI, López-Moreno JA. (2009). Administration of MDMA to ethanol-deprived rats increases ethanol operant self-administration and dopamine release during reinstatement. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 12(7), 929–940.
- Morgan, A. E., Horan, B., Dewey, S. L., & Ashby, C. R. (1997). Repeated administration of 3,4-methylenedioxyamphetamine augments cocaine's action on dopamine in the nucleus accumbens: a microdialysis study. *European journal of pharmacology*, 331(1), R1–3.
- Morgan, M. J. (1998). Recreational use of "ecstasy" (MDMA) is associated with elevated impulsivity. *Neuropsychopharmacology*, 19(4), 252–264.
- Morgan, M. J. (1999). Memory deficits associated with recreational use of "ecstasy" (MDMA). *Psychopharmacology*, 141(1), 30–36.
- Morgan, M. J., McFie, L., Fleetwood, H., & Robinson, J A. (2002). Ecstasy (MDMA): are the psychological problems associated with its use reversed by prolonged abstinence? *Psychopharmacology*, 159(3), 294–303.
- Morilak, D. A., & Ciaranello, R. D. (1993). Ontogeny of 5-hydroxytryptamine₂ receptor immunoreactivity in the developing rat brain. *Neuroscience*, 55(3), 869–880.
- Morini, R., Mlinar, B., Baccini, G., & Corradetti, R. (2011). Enhanced hippocampal long-term potentiation following repeated MDMA treatment in Dark-Agouti rats. *European neuropsychopharmacology*, 21(1), 80–91.
- Morley, K C, & McGregor, I S. (2000). (+/-)-3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA, "Ecstasy") increases social interaction in rats. *European journal of pharmacology*, 408(1), 41–49.
- Morley, Kirsten C, Arnold, J. C., & McGregor, Iain S. (2005). Serotonin (1A) receptor involvement in acute 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA) facilitation of social interaction in the rat. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 29(5), 648–657.
- Morley, K C, Cornish, J L, Li, Kong M, & McGregor, I S. (2004a). Preexposure to MDMA ("Ecstasy") delays acquisition but facilitates MDMA-induced reinstatement of amphetamine self-administration behavior in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 79(2), 331–342.
- Morley, K C, Gallate, J. E., Hunt, G E, Mallet, P E, & McGregor, I S. (2001). Increased anxiety and impaired memory in rats 3 months after administration of 3,4-

Bibliografía.

- methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy"). *European journal of pharmacology*, 433(1), 91–99.
- Morley, K C, Li, Kong M, Hunt, Glenn E, Mallet, Paul E, & McGregor, Iain S. (2004b). Cannabinoids prevent the acute hyperthermia and partially protect against the 5-HT depleting effects of MDMA ("Ecstasy") in rats. *Neuropharmacology*, 46(7), 954–965.
- Morley-Fletcher, S., Bianchi, M., Gerra, Gilberto, & Laviola, Giovanni. (2002). Acute and carryover effects in mice of MDMA ("ecstasy") administration during periadolescence. *European journal of pharmacology*, 448(1), 31–38.
- Moyano, S., Del Río, J., & Frechilla, D. (2005). Acute and chronic effects of MDMA on molecular mechanisms implicated in memory formation in rat hippocampus: surface expression of CaMKII and NMDA receptor subunits. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 82(1), 190–199.
- Moyano, S., Frechilla, D., & Del Río, J. (2004). NMDA receptor subunit and CaMKII changes in rat hippocampus induced by acute MDMA treatment: a mechanism for learning impairment *Psychopharmacology*, 173(3-4), 337–345.
- Mueller, D, & Stewart, J. (2000). Cocaine-induced conditioned place preference: reinstatement by priming injections of cocaine after extinction. *Behavioural brain research*, 115(1), 39–47.
- Mueller, Devin, Perdikaris, D., & Stewart, Jane. (2002). Persistence and drug-induced reinstatement of a morphine-induced conditioned place preference. *Behavioural brain research*, 136(2), 389–397.
- Mueller M, Peters FT, Maurer HH, McCann UD & Ricaurte GA. (2008). Nonlinear pharmacokinetics of (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "Ecstasy") and its major metabolites in squirrel monkeys at plasma concentrations of MDMA that develop after typical psychoactive doses. *Journal of Pharmacology and experimental therapeutics*, 327(1):38-44.
- Murnane, K. S., Fantegrossi, W E, Godfrey, J. R., Banks, M L, & Howell, L. L. (2010). Endocrine and neurochemical effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and its stereoisomers in rhesus monkeys. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 334(2), 642–650.
- Murphy, J. M., Waller, M. B., Gatto, G. J., McBride, W. J., Lumeng, L., & Li, T. K. (1988). Effects of fluoxetine on the intragastric self-administration of ethanol in the alcohol preferring P line of rats. *Alcohol (Fayetteville, NY)*, 5(4), 283–286.
- Nair, SG. (2004). Protein kinase C inhibition differentially affects 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced dopamine release in the striatum and prefrontal cortex of the rat. *Brain research*, 1013(2):168-73.
- Nair, S G, & Gudelsky, G A. (2004). Protein kinase C inhibition differentially affects 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced dopamine release in the striatum and prefrontal cortex of the rat. *Brain research*, 1013(2), 168–173
- Nair, S G, & Gudelsky, G A. (2006b). Effect of a serotonin depleting regimen of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on the subsequent stimulation of acetylcholine release in the rat prefrontal cortex. *Brain research bulletin*, 69(4), 382–387.
- Nair, S G, & Gudelsky, G A. (2006a). 3,4-Methylenedioxymethamphetamine enhances the release of acetylcholine in the prefrontal cortex and dorsal hippocampus of the rat. *Psychopharmacology*, 184(2), 182–189.
- Nakagawa, T., Suzuki, Y., Nagayasu, K., Kitaichi, M., Shirakawa, H., & Kaneko, S. (2011). Repeated exposure to methamphetamine, cocaine or morphine induces augmentation of dopamine release in rat mesocorticolimbic slice co-cultures. *PloS one*, 6(9), e24865.

- Nash, J F. (1990). Ketanserin pretreatment attenuates MDMA-induced dopamine release in the striatum as measured by in vivo microdialysis. *Life sciences*, 47(26), 2401–2408.
- Nash, J F, & Brodtkin, J. (1991). Microdialysis studies on 3,4-methylenedioxyamphetamine-induced dopamine release: effect of dopamine uptake inhibitors. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 259(2), 820–825.
- Nash, J F, Meltzer, H. Y., & Gudelsky, G A. (1988). Elevation of serum prolactin and corticosterone concentrations in the rat after the administration of 3,4-methylenedioxyamphetamine. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 245(3), 873–879.
- Nash, J F, Roth, B L, Brodtkin, J. D., Nichols, D E, & Gudelsky, G A. (1994). Effect of the R(-) and S(+) isomers of MDA and MDMA on phosphatidyl inositol turnover in cultured cells expressing 5-HT_{2A} or 5-HT_{2C} receptors. *Neuroscience letters*, 177(1-2), 111–115.
- Navarro, J F, & Maldonado, E. (1999). Behavioral profile of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA) in agonistic encounters between male mice. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 23(2), 327–334.
- Navarro, José Francisco, & Maldonado, Enrique. (2002). Acute and subchronic effects of MDMA (“ecstasy”) on anxiety in male mice tested in the elevated plus-maze. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 26(6), 1151–1154.
- Navarro, José Francisco, Rivera, A., Maldonado, Enrique, Cavas, M., & la Calle, de, A. (2004). Anxiogenic-like activity of 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (“Ecstasy”) in the social interaction test is accompanied by an increase of c-fos expression in mice amygdala. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 28(2), 249–254.
- Nawata, Y., Hiranita, T., & Yamamoto, Tsuneyuki. (2010). A cannabinoid CB(1) receptor antagonist ameliorates impairment of recognition memory on withdrawal from MDMA (Ecstasy). *Neuropsychopharmacology*, 35(2), 515–520.
- Neisewander, J. L., & Acosta, J. I. (2007). Stimulation of 5-HT_{2C} receptors attenuates cue and cocaine-primed reinstatement of cocaine-seeking behavior in rats. *Behavioural pharmacology*, 18(8), 791–800.
- Nestler, Eric J. (2004). Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology*, 47 Suppl 1, 24–32.
- Newcomb, M. D. (1995). Identifying high-risk youth: prevalence and patterns of adolescent drug abuse. *NIDA research monograph*, 156, 7–38.
- Nic Dhonnchadha, B. A., Fox, R G, Stutz, S. J., Rice, K C, & Cunningham, K A. (2009). Blockade of the serotonin 5-HT_{2A} receptor suppresses cue-evoked reinstatement of cocaine-seeking behavior in a rat self-administration model. *Behavioral neuroscience*, 123(2), 382–396.
- Nichols, D E. (1986). Differences between the mechanism of action of MDMA, MBDB, and the classic hallucinogens. Identification of a new therapeutic class: entactogens. *Journal of psychoactive drugs*, 18(4), 305–313.
- Nichols, David E. (2004). *Hallucinogens Pharmacology & therapeutics*, 101(2), 131–181.
- Nielsen, M., Hansen, E. H., & Gøtzsche, P. C. (2011). What is the difference between dependence and withdrawal reactions? A comparison of benzodiazepines and selective serotonin reuptake inhibitors. *Addiction*.
- Nogueira, L., Kalivas, Peter W, & Lavin, A. (2006). Long-term neuroadaptations produced by withdrawal from repeated cocaine treatment: role of dopaminergic receptors in modulating cortical excitability. *The Journal of neuroscience*, 26(47), 12308–12313.
- Nutt, D J. (2005). A tale of two E-s. *Journal of Psychopharmacology*, 20(3), 315–317.

Bibliografía.

- O'Brien, C. P. (1997). A range of research-based pharmacotherapies for addiction. *Science*, 278(5335), 66–70.
- O'Cain, P. A., Hletko, S. B., Ogden, B. A., & Varner, K. J. (2000). Cardiovascular and sympathetic responses and reflex changes elicited by MDMA. *Physiology & behavior*, 70(1-2), 141–148.
- O'Callaghan, J P, & Miller, D B. (1994). Neurotoxicity profiles of substituted amphetamines in the C57BL/6J mouse. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 270(2), 741–751.
- O'Hearn, E., Battaglia, G., De Souza, E. B., Kuhar, M. J., & Molliver, M. E. (1988). Methylenedioxyamphetamine (MDA) and methylenedioxymethamphetamine (MDMA) cause selective ablation of serotonergic axon terminals in forebrain: immunocytochemical evidence for neurotoxicity. *The Journal of neuroscience*, 8(8), 2788–2803.
- O'Shea, Esther, Escobedo, I., Orio, L., Sanchez, V., Navarro, M., Green, A. R., & Colado, M. I. (2005). Elevation of ambient room temperature has differential effects on MDMA-induced 5-HT and dopamine release in striatum and nucleus accumbens of rats. *Neuropsychopharmacology*, 30(7), 1312–1323.
- O'Shea, Esther, Orio, L., Escobedo, I., Sanchez, V., Camarero, J., Green, A. R., & Colado, M. I. (2006). MDMA-induced neurotoxicity: long-term effects on 5-HT biosynthesis and the influence of ambient temperature. *British Journal of Pharmacology*, 148(6), 778–785.
- O'Shea, E, Esteban, B, Camarero, J, Green, A R, & Colado, M I. (2001). Effect of GBR 12909 and fluoxetine on the acute and long term changes induced by MDMA ("ecstasy") on the 5-HT and dopamine concentrations in mouse brain. *Neuropharmacology*, 40(1), 65–74.
- O'Shea, E, Granados, R., Esteban, B, Colado, Maria Isabel, & Green, A R. (1998). The relationship between the degree of neurodegeneration of rat brain 5-HT nerve terminals and the dose and frequency of administration of MDMA ('ecstasy'). *Neuropharmacology*, 37(7), 919–926.
- Observatorio Europeo de las Drogas. (2010). Informe anual 2011 del Observatorio Europeo de las Drogas, 1–119.
- Oleson, E. B., Richardson, J. M., & Roberts, D. C. S. (2011). A novel IV cocaine self-administration procedure in rats: differential effects of dopamine, serotonin, and GABA drug pre-treatments on cocaine consumption and maximal price paid. *Psychopharmacology*, 214(2), 567–577.
- Ootsuka, Youichirou, Nalivaiko, E., & Blessing, William W. (2004). Spinal 5-HT_{2A} receptors regulate cutaneous sympathetic vasomotor outflow in rabbits and rats; relevance for cutaneous vasoconstriction elicited by MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine, "Ecstasy") and its reversal by clozapine. *Brain research*, 1014(1-2), 34–44.
- Orejarena, M. J., Berrendero, F., Maldonado, Rafael, & Robledo, P. (2009). Differential changes in mesolimbic dopamine following contingent and non-contingent MDMA self-administration in mice. *Psychopharmacology*, 205(3), 457–466.
- Orejarena, M. J., Lanfumey, L., Maldonado, Rafael, & Robledo, P. (2011). Involvement of 5-HT_{2A} receptors in MDMA reinforcement and cue-induced reinstatement of MDMA-seeking behaviour. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 1–14.
- Orio, L., O'Shea, E., Sanchez, V., Pradillo, J. M., Escobedo, I., Camarero, J., Moro, M. A., et al. (2004). 3,4-Methylenedioxymethamphetamine increases interleukin-1 β levels and activates microglia in rat brain: studies on the relationship with acute hyperthermia and 5-HT depletion. *Journal of neurochemistry*, 89(6), 1445–1453.

- Orio, L., Llopis, N., Torres, E., Izco, M., O'Shea, E., & Colado, M. I. (2010). A study on the mechanisms by which minocycline protects against MDMA ("ecstasy")-induced neurotoxicity of 5-HT cortical neurons. *Neurotoxicity research*, 18(2), 187–199.
- Orsini, C., Bonito-Oliva, A., Conversi, D., & Cabib, S. (2008). Genetic liability increases propensity to prime-induced reinstatement of conditioned place preference in mice exposed to low cocaine. *Psychopharmacology*, 198(2), 287–296.
- Ortmann, R. (1985). The conditioned place preference paradigm in rats: effect of bupropion. *Life sciences*, 37(21), 2021–2027.
- O'Donohoe, A., O'Flynn, K., & Shields, K. (1998). MDMA toxicity: no evidence for a major influence of metabolic genotype at CYP2D6. *Addiction Biology*, Vol. 3, 309–314.
- Pacifici, R., Zuccaro, P., Farre, M., Pichini, S., Di Carlo, S., Roset, P. N., Ortuno, J., et al. (2001). Effects of repeated doses of MDMA ("ecstasy") on cell-mediated immune response in humans. *Life sciences*, 69(24), 2931–2941.
- Paez, X., & Leibowitz, S. F. (1993). Changes in extracellular PVN monoamines and macronutrient intake after idazoxan or fluoxetine injection. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 46(4), 933–941.
- Pagliaro, L. A., & Pagliaro, A. M. (1993). Fluoxetine abuse by an intravenous drug user. *The American journal of psychiatry*, 150(12), 1898.
- Palenicek, T., Votava, M., Bubenikova, V., & Horacek, J. (2005). Increased sensitivity to the acute effects of MDMA ("ecstasy") in female rats. *Physiology & behavior*, 86(4), 546–553.
- Pallanti, S., & Mazzi, D. (1992). MDMA (Ecstasy) precipitation of panic disorder. *Biological psychiatry*, 32(1), 91–95.
- Parker, L. A., & McDonald, R. V. (2000). Reinstatement of both a conditioned place preference and a conditioned place aversion with drug primes. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 66(3), 559–561.
- Parrott, A C. (2004a). Is ecstasy MDMA? A review of the proportion of ecstasy tablets containing MDMA, their dosage levels, and the changing perceptions of purity. *Psychopharmacology*, 173(3-4), 234–241.
- Parrott, A C. (2004b). MDMA (3,4-Methylenedioxyamphetamine) or ecstasy: the neuropsychobiological implications of taking it at dances and raves. *Neuropsychobiology*, 50(4), 329–335.
- Parrott, A C. (2005). Chronic tolerance to recreational MDMA (3,4-methylenedioxyamphetamine) or Ecstasy. *Journal of Psychopharmacology*, 19(1), 71–83.
- Parrott, Andy C. (2006). MDMA in humans: factors which affect the neuropsychobiological profiles of recreational ecstasy users, the integrative role of bioenergetic stress. *Journal of Psychopharmacology*, 20(2), 147–163.
- Parrott, A C. (2007). The psychotherapeutic potential of MDMA (3,4-methylenedioxyamphetamine): an evidence-based review. *Psychopharmacology*, 191(2), 181–193.
- Parrott, Andrew C. (2011). Residual neurocognitive features of ecstasy use: a re-interpretation of halpern et al. (2011) consistent with serotonergic neurotoxicity. *Addiction*, 106(7), 1365–1268.
- Parrott, A C, Buchanan, T., Scholey, A. B., Heffernan, T., Ling, J., & Rodgers, J. (2002). Ecstasy/MDMA attributed problems reported by novice, moderate and heavy recreational users. *Human psychopharmacology*, 17(6), 309–312.

Bibliografia.

- Parrott, A C, Rodgers, J., Buchanan, T., Ling, J., Heffernan, T., & Scholey, A. B. (2006). Dancing hot on Ecstasy: physical activity and thermal comfort ratings are associated with the memory and other psychobiological problems reported by recreational MDMA users. *Human psychopharmacology*, 21(5), 285–298.
- Parrott, A C, & Lasky, J. (1998). Ecstasy (MDMA) effects upon mood and cognition: before, during and after a Saturday night dance. *Psychopharmacology*, 139(3), 261–268.
- Parrott, A C, Milani, R M, Parmar, R., & Turner, J D. (2001). Recreational ecstasy/MDMA and other drug users from the UK and Italy: psychiatric symptoms and psychobiological problems. *Psychopharmacology*, 159(1), 77–82.
- Parrott, A C, Sisk, E., & Turner, J J. (2000). Psychobiological problems in heavy “ecstasy” (MDMA) polydrug users. *Drug and alcohol dependence*, 60(1), 105–110.
- Parrott, AC, & Sisk, E. (2000). Psychobiological problems in heavy ‘ecstasy’(MDMA) polydrug users. *Drug and alcohol dependence*, 1;60(1):105-10.
- Parsons, L. H., Smith, A. D., & Justice, J. B. (1991). Basal extracellular dopamine is decreased in the rat nucleus accumbens during abstinence from chronic cocaine. *Synapse*, 9(1), 60–65.
- Partilla, J. S., Dempsey, A. G., Nagpal, A. S., Blough, B. E., Baumann, M. H., & Rothman, R. B. (2006). Interaction of amphetamines and related compounds at the vesicular monoamine transporter. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 319(1), 237–246.
- Pavarin, R. M. (2006). Substance use and related problems: a study on the abuse of recreational and not recreational drugs in Northern Italy. *Annali dell'Istituto superiore di sanità*, 42(4), 477–484.
- Pehek, E. A., Nocjar, C., Roth, Bryan L, Byrd, T. A., & Mabrouk, O. S. (2006). Evidence for the preferential involvement of 5-HT_{2A} serotonin receptors in stress- and drug-induced dopamine release in the rat medial prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*, 31(2), 265–277.
- Peltier, R., & Schenk, S. (1993). Effects of serotonergic manipulations on cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology*, 110(4), 390–394.
- Pentkowski, N. S., Duke, F. D., Weber, S. M., Pockros, L. A., Teer, A. P., Hamilton, E. C., Thiel, K. J., et al. (2010). Stimulation of medial prefrontal cortex serotonin 2C (5-HT_{2C}) receptors attenuates cocaine-seeking behavior. *Neuropsychopharmacology*, 35(10), 2037–2048.
- Pentkowski, N. S., Acosta, J. I., Browning, J. R., Hamilton, E. C., & Neisewander, J. L. (2009). Stimulation of 5-HT_{1B} receptors enhances cocaine reinforcement yet reduces cocaine-seeking behavior. *Addiction biology*, 14(4), 419–430.
- Pentney, A. R. (2001). An exploration of the history and controversies surrounding MDMA and MDA. *Journal of psychoactive drugs*, 33(3), 213–221.
- Peraile, I., Torres, E., Mayado, A., Izco, M., Lopez-Jimenez, A., Lopez-Moreno, J. A., Colado, M. I., et al. (2010). Dopamine transporter down-regulation following repeated cocaine: implications for 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced acute effects and long-term neurotoxicity in mice. *British Journal of Pharmacology*, 159(1), 201–211.
- Peroutka, S. J., Newman, H., & Harris, H. (1988). Subjective effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in recreational users. *Neuropsychopharmacology*, 1(4), 273–277.
- Perrine, S. A., Ghodoussi, F., Michaels, M. S., Hyde, E. M., Kuhn, D. M., & Galloway, M. P. (2010). MDMA administration decreases serotonin but not N-acetylaspartate in the rat brain. *Neurotoxicology*, 31(6), 654–661.

- Perry JL, Carroll ME. (2008). The role of impulsive behavior in drug abuse. *Psychopharmacology*, (1):1-26.
- Perry, K. W., & Fuller, R. W. (1992). Effect of fluoxetine on serotonin and dopamine concentration in microdialysis fluid from rat striatum. *Life sciences*, 50(22), 1683–1690.
- Pettit, H. O., Pan, H. T., Parsons, L. H., & Justice, J. B. (1990). Extracellular concentrations of cocaine and dopamine are enhanced during chronic cocaine administration. *Journal of neurochemistry*, 55(3), 798–804.
- Phelix, C. F., Liposits, Z., & Paull, W. K. (1994). Catecholamine-CRF synaptic interaction in a septal bed nucleus: afferents of neurons in the bed nucleus of the stria terminalis. *Brain research bulletin*, 33(1), 109–119.
- Piper, B. J. (2007). A developmental comparison of the neurobehavioral effects of ecstasy (MDMA). *Neurotoxicology and teratology*, 29(2), 288–300.
- Piper, B. J., & Meyer, J. S. (2004). Memory deficit and reduced anxiety in young adult rats given repeated intermittent MDMA treatment during the periadolescent period. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 79(4), 723–731.
- Piper, B. J., Fraiman, J. B., & Meyer, J. S. (2005). Repeated MDMA (“Ecstasy”) exposure in adolescent male rats alters temperature regulation, spontaneous motor activity, attention, and serotonin transporter binding. *Developmental psychobiology*, 47(2), 145–157.
- Pizarro, N., Farre, M., Pujadas, M., Peiró, A. M., Roset, P. N., Joglar, J., & la Torre, de, R. (2004). Stereochemical analysis of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and its main metabolites in human samples including the catechol-type metabolite (3,4-dihydroxymethamphetamine). *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 32(9), 1001–1007.
- Plaza-Zabala, A., Berrendero, F., Suarez, J., Bermudez-Silva, F. J., Fernandez-Espejo, E., Serrano, A., Pavon, F.-J., et al. (2010). Effects of the endogenous PPAR-alpha agonist, oleylethanolamide on MDMA-induced cognitive deficits in mice. *Synapse*, 64(5), 379–389.
- Plaznik, A., & Kostowski, W. (1987). The effects of antidepressants and electroconvulsive shocks on the functioning of the mesolimbic dopaminergic system: a behavioral study. *European journal of pharmacology*, 135(3), 389–396.
- PNSD. (2010). ESTUDES, 1994-2008, 1–43.
- Pockros, L. A., Pentkowski, N. S., Swinford, S. E., & Neisewander, J. L. (2011). Blockade of 5-HT2A receptors in the medial prefrontal cortex attenuates reinstatement of cue-elicited cocaine-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology*, 213(2-3), 307–320.
- Pontes, H., Duarte, J. A., de Pinho, P. G., Soares, M. E., Fernandes, E., Dinis-Oliveira, R. J., Sousa, C., et al. (2008). Chronic exposure to ethanol exacerbates MDMA-induced hyperthermia and exposes liver to severe MDMA-induced toxicity in CD1 mice. *Toxicology*, 252(1-3), 64–71.
- Pope, H. G., Ionescu-Pioggia, M., & Pope, K. W. (2001). Drug use and life style among college undergraduates: a 30-year longitudinal study. *The American journal of psychiatry*, 158(9), 1519–1521.
- Popik, P., Wrobel, M., & Bisaga, A. (2006). Reinstatement of morphine-conditioned reward is blocked by memantine. *Neuropsychopharmacology*, 31(1), 160–170.
- Powell, S. B., Lehmann-Masten, V. D., Paulus, M. P., Gainetdinov, R. R., Caron, M. G., & Geyer, M. A. (2004). MDMA “ecstasy” alters hyperactive and perseverative behaviors in dopamine transporter knockout mice. *Psychopharmacology*, 173(3-4), 310–317.

Bibliografia.

- Pozzi, L., Invernizzi, R., Garavaglia, C., & Samanin, R. (1999). Fluoxetine increases extracellular dopamine in the prefrontal cortex by a mechanism not dependent on serotonin: a comparison with citalopram. *Journal of neurochemistry*, 73(3), 1051–1057.
- Prisco, S., & Esposito, E. (1995). Differential effects of acute and chronic fluoxetine administration on the spontaneous activity of dopaminergic neurones in the ventral tegmental area. *British Journal of Pharmacology*, 116(2), 1923–1931.
- Prisco, S., Pagannone, S., & Esposito, E. (1994). Serotonin-dopamine interaction in the rat ventral tegmental area: an electrophysiological study in vivo. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 271(1), 83–90.
- Przegaliński, E., Gołda, A., & Filip, M. (2008). Effects of serotonin (5-HT)(1B) receptor ligands on cocaine-seeking behavior in rats. *Pharmacological reports*, 60(6), 798–810.
- Pubill, David, Canudas, A. M., Pallàs, M., Camins, A., Camarasa, J., & Escubedo, E. (2003). Different glial response to methamphetamine- and methylenedioxymethamphetamine-induced neurotoxicity. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 367(5), 490–499.
- Puerta, E., Hervias, I., & Aguirre, N. (2009). On the mechanisms underlying 3,4-methylenedioxymethamphetamine toxicity: the dilemma of the chicken and the egg. *Neuropsychobiology*, 60(3-4), 119–129.
- Quednow, B. B., Jessen, F., Kühn, K.-U., Maier, W., Daum, I., & Wagner, M. (2006). Memory deficits in abstinent MDMA (ecstasy) users: neuropsychological evidence of frontal dysfunction. *Journal of Psychopharmacology*, 20(3), 373–384.
- Quednow, B. B., Kühn, K.-U., Hoppe, C., Westheide, J., Maier, W., Daum, I., & Wagner, M. (2007). Elevated impulsivity and impaired decision-making cognition in heavy users of MDMA ("Ecstasy"). *Psychopharmacology*, 189(4), 517–530.
- Rademacher, D. J., Anders, K. A., Riley, M. G., Nesbitt, J. T., & Steinpreis, R. E. (2000). Determination of the place conditioning and locomotor effects of amperozide in rats: a comparison with cocaine. *Experimental and clinical psychopharmacology*, 8(3), 434–443.
- Rafieian-Kopaei, M., Gray, A. M., Spencer, P. S., & Sewell, R. D. (1995). Contrasting actions of acute or chronic paroxetine and fluvoxamine on morphine withdrawal-induced place conditioning. *European journal of pharmacology*, 275(2), 185–189.
- Ramamoorthy, Y., Yu, A.-M., Suh, N., Haining, R. L., Tyndale, R. F., & Sellers, E. M. (2002). Reduced (+/-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine ("Ecstasy") metabolism with cytochrome P450 2D6 inhibitors and pharmacogenetic variants in vitro. *Biochemical pharmacology*, 63(12), 2111–2119.
- Ramos, M., Goni-Allo, B., & Aguirre, Norberto. (2004). Studies on the role of dopamine D1 receptors in the development and expression of MDMA-induced behavioral sensitization in rats. *Psychopharmacology*, 177(1-2), 100–110.
- Ramos, M., Goni-Allo, B., & Aguirre, Norberto. (2005a). Administration of SCH 23390 into the medial prefrontal cortex blocks the expression of MDMA-induced behavioral sensitization in rats: an effect mediated by 5-HT_{2C} receptor stimulation and not by D1 receptor blockade. *Neuropsychopharmacology*, 30(12), 2180–2191.
- Ramos, M., Goni-Allo, B., & Aguirre, Norberto. (2005b). Ibotenic acid lesions of the medial prefrontal cortex block the development and expression of 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced behavioral sensitization in rats. *Behavioural brain research*, 160(2), 304–311.
- Randall, S., Johanson, C.-E., Tancer, M., & Roehrs, T. (2009). Effects of acute 3,4-methylenedioxymethamphetamine on sleep and daytime sleepiness in MDMA users: a preliminary study. *Sleep*, 32(11), 1513–1519.

- Ratzenboeck, E., Saria, A., Kriechbaum, N., & Zernig, G. (2001). Reinforcing effects of MDMA ("ecstasy") in drug-naive and cocaine-trained rats. *Pharmacology*, 62(3), 138–144.
- Reid, L. D., Hubbell, C. L., Tsai, J., Fishkin, M. D., & Amendola, C. A. (1996). Naltrindole, a delta-opioid antagonist, blocks MDMA's ability to enhance pressing for rewarding brain stimulation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 53(2), 477–480.
- Reinhard, C., & Wolffgramm, J. (2006). Long-term voluntary consumption of MDMA and THC in rats is modified by individual and situational factors. *Addiction biology*, 11(2), 131–144.
- Reneman, L., Booij, J., de Bruin, K., Reitsma, J. B., de Wolff, F. A., Gunning, W. B., Heeten, den, G. J., et al. (2001b). Effects of dose, sex, and long-term abstinence from use on toxic effects of MDMA (ecstasy) on brain serotonin neurons. *Lancet*, 358(9296), 1864–1869.
- Reneman, L., Lavalaye, J., Schmand, B., de Wolff, F. A., van den Brink, W., Heeten, den, G. J., & Booij, J. (2001c). Cortical serotonin transporter density and verbal memory in individuals who stopped using 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or "ecstasy"): preliminary findings. *Archives of general psychiatry*, 58(10), 901–906.
- Reneman, Liesbeth, Endert, E., de Bruin, K., Lavalaye, J., Feenstra, M. G., de Wolff, F. A., & Booij, J. (2002). The acute and chronic effects of MDMA ("ecstasy") on cortical 5-HT_{2A} receptors in rat and human brain. *Neuropsychopharmacology*, 26(3), 387–396.
- Reneman, Liesbeth, Booij, Jan, Majoie, C. B. L. M., den Brink, van, W., & Heeten, den, Gerard J. (2001a). Investigating the potential neurotoxicity of Ecstasy (MDMA): an imaging approach. *Human psychopharmacology*, 16(8), 579–588.
- Reneman, L., Booij, J., Schmand, B., van den Brink, W., & Gunning, B. (2000). Memory disturbances in "Ecstasy" users are correlated with an altered brain serotonin neurotransmission. *Psychopharmacology*, 148(3), 322–324.
- Reneman, L., Majoie, C. B., Habraken, J. B., & Heeten, den, G. J. (2001d). Effects of ecstasy (MDMA) on the brain in abstinent users: initial observations with diffusion and perfusion MR imaging. *Radiology*, 220(3), 611–617.
- Reneman, L., Majoie, C. B., Schmand, B., van den Brink, W., & Heeten, den, G. J. (2001e). Prefrontal N-acetylaspartate is strongly associated with memory performance in (abstinent) ecstasy users: preliminary report. *Biological psychiatry*, 50(7), 550–554.
- Renoir, T., Paizanis, E., Yacoubi, El, M., Saurini, F., Hanoun, N., Melfort, M., Lesch, K.-P., et al. (2008). Differential long-term effects of MDMA on the serotonergic system and hippocampal cell proliferation in 5-HTT knock-out vs. wild-type mice. *The international journal of neuropsychopharmacology*, 11(8), 1149–1162.
- Reveron, M.E., Maier, E. Y., & Duvauchelle, C. L. (2010). Behavioral, thermal and neurochemical effects of acute and chronic 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("Ecstasy") self-administration. *Behavioural brain research*, 207(2), 500–507.
- Reveron, M.E., Monks, T. J., & Duvauchelle, C. L. (2005). Age-dependent (+)MDMA-mediated neurotoxicity in mice. *Neurotoxicology*, 26(6), 1031–1040.
- Ribeiro Do Couto, B., Aguilar, M. A., Manzanedo, C., Rodríguez-Arias, M., Armario, A., & Miñarro, J. (2006). Social stress is as effective as physical stress in reinstating morphine-induced place preference in mice. *Psychopharmacology*, 185(4), 459–470.
- Ribeiro Do Couto, B., Rodríguez-Arias, M., Fuentes, S., Gagliano, H., Armario, A., Miñarro, J., & Aguilar, M. A. (2011a). Adolescent pre-exposure to ethanol or MDMA prolongs the conditioned rewarding effects of MDMA. *Physiology & behavior*, 103(5), 585–593.
- Ribeiro Do Couto, B., Daza-Losada, M., Rodríguez-Arias, M., Nadal, R., Guerri, C., Summavielle, T., Miñarro, J., & Aguilar MA., (2011b). Adolescent pre-exposure to ethanol

Bibliografía.

- and 3,4-methylenedioxymethylamphetamine (MDMA) increases conditioned rewarding effects of MDMA and drug-induced reinstatement. *Addiction biology*.
- Ribeiro Do Couto, B., Aguilar, M.A., Lluch, J., Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, J. (2009). Social experiences affect reinstatement of cocaine-induced place preference in mice. *Psychopharmacology*, 207(3), 485–498.
- Ribeiro Do Couto, B, Aguilar, M A, Manzanedo, C, Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, J. (2003). Reinstatement of morphine-induced conditioned place preference in mice by priming injections. *Neural plasticity*, 10(4), 279–290.
- Ribeiro Do Couto, B, Aguilar, M A, Manzanedo, C, Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, J. (2004). Effects of NMDA receptor antagonists (MK-801 and memantine) on the acquisition of morphine-induced conditioned place preference in mice. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 28(6), 1035–1043.
- Ribeiro Do Couto, B, Aguilar, M A, Manzanedo, C, Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, J. (2005a). NMDA glutamate but not dopamine antagonists blocks drug-induced reinstatement of morphine place preference. *Brain research bulletin*, 64(6), 493–503.
- Ribeiro Do Couto, B, Aguilar, M A, Rodríguez-Arias, M., & Miñarro, J. (2005b). Long-lasting rewarding effects of morphine induced by drug primings. *Brain research*, 1050(1-2), 53–63.
- Ricaurte, G A, Forno, L. S., Wilson, M. A., DeLanney, L. E., Irwin, I., Molliver, M. E., & Langston, J. W. (1988a). (+/-)3,4-Methylenedioxymethamphetamine selectively damages central serotonergic neurons in nonhuman primates. *The journal of the American Medical Association*, 260(1), 51–55.
- Ricaurte, G A, Markowska, A. L., Wenk, G. L., Hatzidimitriou, G., Wlos, J., & Olton, D. S. (1993a). 3,4-Methylenedioxymethamphetamine, serotonin and memory. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 266(2), 1097–1105.
- Ricaurte, G A, & McCann, U D. (1992). Neurotoxic amphetamine analogues: effects in monkeys and implications for humans. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 648, 371–382.
- Ricaurte, G A, DeLanney, L. E., Irwin, I., & Langston, J. W. (1988b). Toxic effects of MDMA on central serotonergic neurons in the primate: importance of route and frequency of drug administration. *Brain research*, 446(1), 165–168.
- Ricaurte, G A, Martello, A. L., Katz, J. L., & Martello, M. B. (1992). Lasting effects of (+/-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on central serotonergic neurons in nonhuman primates: neurochemical observations. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 261(2), 616–622.
- Ricaurte, G, Bryan, G., Strauss, L., Seiden, L., & Schuster, C. (1985). Hallucinogenic amphetamine selectively destroys brain serotonin nerve terminals. *Science*, 229(4717), 986–988.
- Ricaurte GA, Markowska AL, Wenk GL, Hatzidimitriou G, Wlos J, Olton DS. (1993b). 3, 4-Methylenedioxymethamphetamine, serotonin and memory. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 266(2):1097-105.
- Riedel, G., Platt, B., & Micheau, J. (2003). Glutamate receptor function in learning and memory. *Behavioural brain research*, 140(1-2), 1–47.
- Risbrough, V. B., Masten, V. L., Caldwell, S., Paulus, M. P., Low, M. J., & Geyer, M. A. (2006). Differential contributions of dopamine D1, D2, and D3 receptors to MDMA-induced effects on locomotor behavior patterns in mice. *Neuropsychopharmacology*, 31(11), 2349–2358.
- Rittoo, D., Rittoo, D. B., & Rittoo, D. (1992). Misuse of ecstasy *BMJ (Clinical research ed)*, 305(6848), 309–310.

- Roberts, G. M. P., & Garavan, H. (2010). Evidence of increased activation underlying cognitive control in ecstasy and cannabis users. *NeuroImage*, 52(2), 429–435.
- Robinson, Terry E., & Berridge, K. C. (2008). Review. The incentive sensitization theory of addiction: some current issues. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1507), 3137–3146.
- Robledo, P., Mendizabal, V., Ortuño, J., la Torre, de, R., Kieffer, B. L., & Maldonado, R. (2004b). The rewarding properties of MDMA are preserved in mice lacking mu-opioid receptors. *The European journal of neuroscience*, 20(3), 853–858.
- Robledo, P., Balerio, G., Berrendero, F., & Maldonado, Rafael. (2004a). Study of the behavioural responses related to the potential addictive properties of MDMA in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 369(3), 338–349.
- Robledo, P., Trigo, Jose M, Panayi, F., la Torre, de, Rafael, & Maldonado, Rafael. (2007). Behavioural and neurochemical effects of combined MDMA and THC administration in mice. *Psychopharmacology*, 195(2), 255–264.
- Rockman, G. E., Amit, Z., Bourque, C., Brown, Z. W., & Ogren, S. O. (1980). Reduction of voluntary morphine consumption following treatment with zimelidine. *Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie*, 244(1), 123–129.
- Rodgers, J. (2000). Cognitive performance amongst recreational users of "ecstasy". *Psychopharmacology*, 151(1), 19–24.
- Rodgers, J., Buchanan, T., Heffernan, T., Ling, Jonathan, & Scholey, A. (2011). "Ecstasy use, by itself, does not result in residual neurotoxicity-" a powerful argument. *Addiction, Letters to the Editor*, 106(7), 1269–1270.
- Rodríguez-Alarcón, G., Canales, J. J., & Salvador, A. (2007). Rewarding effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("Ecstasy") in dominant and subordinate OF-1 mice in the place preference conditioning paradigm. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 31(1), 191–199.
- Rodríguez-Arias, M., Manzanedo, C., Roger-Sánchez, C., Couto, B. R. D., Aguilar, M. A., & Miñarro, J. (2010). Effect of adolescent exposure to WIN 55212-2 on the acquisition and reinstatement of MDMA-induced conditioned place preference. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 34(1), 166–171.
- Rodríguez-Arias, M., Maldonado, C., Vidal-Infer, A., Guerri, C., Aguilar, M. A., & Miñarro, J. (2011). Intermittent ethanol exposure increases long-lasting behavioral and neurochemical effects of MDMA in adolescent mice. *Psychopharmacology*, 218(2):429-42.
- Rodríguez-Arias, M., Castillo, A, Daza-Losada, M, Aguilar, M A, & Miñarro, José. (2009). Effects of extended cocaine conditioning in the reinstatement of place preference. *Physiology & behavior*, 96(4-5), 620–630.
- Rodsiri, R., Spicer, C., Green, A Richard, Marsden, Charles A, & Fone, Kevin C F. (2011). Acute concomitant effects of MDMA binge dosing on extracellular 5-HT, locomotion and body temperature and the long-term effect on novel object discrimination in rats. *Psychopharmacology*, 213(2-3), 365–376.
- Roger-Sánchez, C., Aguilar, M A, Rodríguez-Arias, M., Aragon, C. M., & Miñarro, J. (2011). Age- and sex-related differences in the acquisition and reinstatement of ethanol CPP in mice. *Neurotoxicology and teratology*.
- Rogers, G., Elston, J., & Garside, R. (2009). The harmful health effects of recreational ecstasy: a systematic review of observational evidence. *Health Technology Assessment*, 13(6):1-315.
- Roiser, J. P., Cook, L. J., Cooper, J. D., Rubinsztein, D. C., & Sahakian, B. J. (2005). Association of a functional polymorphism in the serotonin transporter gene with abnormal

Bibliografía.

- emotional processing in ecstasy users. *The American journal of psychiatry*, 162(3), 609–612.
- Roma, P. G., & Riley, A. L. (2005). Apparatus bias and the use of light and texture in place conditioning. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 82(1), 163–169.
- Romieu, P., Meunier, J., Garcia, D., Zozime, N., Martin-Fardon, R., Bowen, W. D., & Maurice, T. (2004). The sigma1 (sigma1) receptor activation is a key step for the reactivation of cocaine conditioned place preference by drug priming. *Psychopharmacology*, 175(2), 154–162.
- Rothman, R B, Baumann, M. H., Dersch, C. M., Romero, D. V., Rice, K. C., Carroll, F. I., & Partilla, J. S. (2001). Amphetamine-type central nervous system stimulants release norepinephrine more potently than they release dopamine and serotonin. *Synapse*, 39(1), 32–41. -3
- Rothman, Richard B, Jayanthi, S., Wang, X., Dersch, C. M., Cadet, J. L., Prisinzano, T., Rice, K. C., et al. (2003). High-dose fenfluramine administration decreases serotonin transporter binding, but not serotonin transporter protein levels, in rat forebrain. *Synapse*, 50(3), 233–239.
- Rothman, Richard B, Jayanthi, S., Cadet, J. L., Wang, X., Dersch, C. M., & Baumann, M. H. (2004). Substituted amphetamines that produce long-term serotonin depletion in rat brain (“neurotoxicity”) do not decrease serotonin transporter protein expression. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1025, 151–161.
- Rudnick, G., & Wall, S. C. (1992). The molecular mechanism of “ecstasy” [3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA)]: serotonin transporters are targets for MDMA-induced serotonin release. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(5), 1817–1821.
- Ruiz-Medina, J., Ledent, C., Carretón, O., & Valverde, Olga. (2011). The A2a adenosine receptor modulates the reinforcement efficacy and neurotoxicity of MDMA. *Journal of psychopharmacology*, 25(4), 550–564.
- Saadat, K. S., Elliott, J Martin, Green, A Richard, & Moran, P. M. (2006). High-dose MDMA does not result in long-term changes in impulsivity in the rat. *Psychopharmacology*, 188(1), 75–83.
- Sabol, K. E., Lew, R., Richards, J. B., Vosmer, G. L., & Seiden, L. S. (1996). Methylenedioxyamphetamine-induced serotonin deficits are followed by partial recovery over a 52-week period. Part I: Synaptosomal uptake and tissue concentrations. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 276(2), 846–854.
- Sadler, R., Herzig, V., & Schmidt, W. J. (2007). Repeated treatment with the NMDA antagonist MK-801 disrupts reconsolidation of memory for amphetamine-conditioned place preference. *Behavioural pharmacology*, 18(7), 699–703.
- Sadzot, B., Baraban, J. M., Glennon, R. A., Lyon, R. A., Leonhardt, S., Jan, C. R., & Titeler, M. (1989). Hallucinogenic drug interactions at human brain 5-HT2 receptors: implications for treating LSD-induced hallucinogenesis. *Psychopharmacology*, 98(4), 495–499.
- Saiz, P., & Bobes, J. (2009). Drogas de diseño (III) Complicaciones psiquiátricas del uso de drogas de diseño (MDMA). *Drogodependencias. Farmacología. Patología. Psicología. Legislación.*, 1–11.
- Saiz, P., García-Portilla, M., & Paredes, B. (2003). Evolución histórica del uso y abuso de MDMA. *Adicciones Rev Sociodrogalcohol*, 35–49.
- Sakoori, K., & Murphy, N. P. (2005). Maintenance of conditioned place preferences and aversion in C57BL6 mice: effects of repeated and drug state testing. *Behavioural brain research*, 160(1), 34–43.

- Salzmann, J., Marie-Claire, C., Le Guen, S., Roques, B. P., & Noble, F. (2003). Importance of ERK activation in behavioral and biochemical effects induced by MDMA in mice. *British Journal of Pharmacology*, 140(5), 831–838.
- Sanchez, C J, & Sorg, B. A. (2001). Conditioned fear stimuli reinstate cocaine-induced conditioned place preference. *Brain research*, 908(1), 86–92.
- Sanchez, C J, Bailie, T. M., Wu, W.-R., Li, N, & Sorg, B. A. (2003). Manipulation of dopamine d1-like receptor activation in the rat medial prefrontal cortex alters stress- and cocaine-induced reinstatement of conditioned place preference behavior. *Neuroscience*, 119(2), 497–505.
- Sanchez, V, Camarero, J., Esteban, B., Peter, M. J., Green, A. R., & Colado, M. I. (2001). The mechanisms involved in the long-lasting neuroprotective effect of fluoxetine against MDMA (“ecstasy”)-induced degeneration of 5-HT nerve endings in rat brain. *British Journal of Pharmacology*, 134(1), 46–57.
- Sanchez, Veronica, O’Shea, E., Saadat, K. S., Elliott, J. M., Colado, M. I., & Green, A. R. (2004). Effect of repeated (“binge”) dosing of MDMA to rats housed at normal and high temperature on neurotoxic damage to cerebral 5-HT and dopamine neurones. *Journal of Psychopharmacology*, 18(3), 412–416.
- Santucci, A. C., Knott, P. J., & Haroutunian, V. (1996). Excessive serotonin release, not depletion, leads to memory impairments in rats. *European journal of pharmacology*, 295(1), 7–17.
- Sarkar, S., & Schmued, L. (2010). Neurotoxicity of ecstasy (MDMA): an overview. *Current pharmaceutical biotechnology*, 11(5), 460–469.
- Saunders, N. (1993). E for ecstasy.
- Sawyer, J., & Stephens, W. P. (1992). Misuse of ecstasy *BMJ (Clinical research ed)*, 305(6848), 310.
- Scanzello, C. R., Hatzidimitriou, G., Martello, A. L., Katz, J. L., & Ricaurte, G A. (1993). Serotonergic recovery after (+/-)3,4-(methylenedioxy) methamphetamine injury: observations in rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 264(3), 1484–1491.
- Searce-Levie, K., Viswanathan, S. S., & Hen, R. (1999). Locomotor response to MDMA is attenuated in knockout mice lacking the 5-HT1B receptor. *Psychopharmacology*, 141(2), 154–161.
- Schechter, M. D. (1991). Effect of MDMA neurotoxicity upon its conditioned place preference and discrimination. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38(3), 539–544.
- Schechter, M. D., & Calcagnetti, D. J. (1993). Trends in place preference conditioning with a cross-indexed bibliography; 1957-1991. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 17(1), 21–41.
- Schenk, Susan. (2009). MDMA self-administration in laboratory animals: a summary of the literature and proposal for future research. *Neuropsychobiology*, 60(3-4), 130–136.
- Schenk, Susan, Hely, L., Lake, B., Daniela, E., Gittings, D., & Mash, D. C. (2007). MDMA self-administration in rats: acquisition, progressive ratio responding and serotonin transporter binding. *The European journal of neuroscience*, 26(11), 3229–3236.
- Schenk, Susan, & Izenwasser, S. (2002). Pretreatment with methylphenidate sensitizes rats to the reinforcing effects of cocaine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 72(3), 651–657.
- Schenk, S, Gittings, D, & Colussi-Mas, J. (2011). Dopaminergic mechanisms of reinstatement of MDMA-seeking behaviour in rats. *British Journal of Pharmacology*, 162(8), 1770–1780.

Bibliografia.

- Schenk, Susan, Gittings, David, Johnstone, M., & Daniela, Evangeline. (2003). Development, maintenance and temporal pattern of self-administration maintained by ecstasy (MDMA) in rats. *Psychopharmacology*, 169(1), 21–27.
- Schenk, Susan, Harper, David N, & Do, J. (2011). Novel object recognition memory: measurement issues and effects of MDMA self-administration following short inter-trial intervals. *Journal of psychopharmacology*, 25(8):1043-52.
- Schenk, Susan, Hely, L., Gittings, David, Lake, B., & Daniela, Evangeline. (2008). Effects of priming injections of MDMA and cocaine on reinstatement of MDMA- and cocaine-seeking in rats. *Drug and alcohol dependence*, 96(3), 249–255.
- Schepis TS, Adinoff B, Rao U. (2008). Neurobiological processes in adolescent addictive disorders. *The American journal on addictions*, 17(1):6-23.
- Schifano, F. (1991). Chronic atypical psychosis associated with MDMA (“ecstasy”) abuse. *Lancet*, 338(8778), 1335.
- Schifano, F, & Magni, G. (1994). MDMA (“ecstasy”) abuse: psychopathological features and craving for chocolate: a case series. *Biological psychiatry*, 36(11), 763–767.
- Schifano, F, Di Furia, L., Forza, G, Minicuci, N., & Bricolo, R. (1998). MDMA (“ecstasy”) consumption in the context of polydrug abuse: a report on 150 patients. *Drug and alcohol dependence*, 52(1), 85–90.
- Schilt, T., Koeter, M. W. J., Smal, J. P., Gouweter, M. N., den Brink, van, W., & Schmand, B. (2010). Long-term neuropsychological effects of ecstasy in middle-aged ecstasy/polydrug users. *Psychopharmacology*, 207(4), 583–591.
- Schmidt, C. J. (1987). Acute administration of methylenedioxymethamphetamine: comparison with the neurochemical effects of its N-desmethyl and N-ethyl analogs. *European journal of pharmacology*, 136(1), 81–88.
- Schmidt, C. J., & Taylor, V. L. (1987). Depression of rat brain tryptophan hydroxylase activity following the acute administration of methylenedioxymethamphetamine. *Biochemical pharmacology*, 36(23), 4095–4102.
- Schmidt, C. J., Abbate, G. M., Black, C. K., & Taylor, V. L. (1990). Selective 5-hydroxytryptamine₂ receptor antagonists protect against the neurotoxicity of methylenedioxymethamphetamine in rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 255(2), 478–483.
- Schmidt, C. J., Levin, J. A., & Lovenberg, W. (1987). In vitro and in vivo neurochemical effects of methylenedioxymethamphetamine on striatal monoaminergic systems in the rat brain. *Biochemical pharmacology*, 36(5), 747–755.
- Schmidt, C. J., Sullivan, C. K., & Fadayer, G. M. (1994). Blockade of striatal 5-hydroxytryptamine₂ receptors reduces the increase in extracellular concentrations of dopamine produced by the amphetamine analogue 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *Journal of neurochemistry*, 62(4), 1382–1389.
- Schmidt, C. J., Wu, L., & Lovenberg, W. (1986). Methylenedioxymethamphetamine: a potentially neurotoxic amphetamine analogue. *European journal of pharmacology*, 124(1-2), 175–178.
- Schmidt, C., Black, C., Abbate, G., & Taylor, V. (1990). Methylenedioxymethamphetamine-induced hyperthermia and neurotoxicity are independently mediated by 5-HT₂ receptors. *Brain research*, 529(1-2), 85–90.
- Schneider, M. (2008). Puberty as a highly vulnerable developmental period for the consequences of cannabis exposure. *Addiction biology*, 13(2), 253–263.

- Schramm-Sapyta, N. L., Pratt, A. R., & Winder, D. G. (2004). Effects of periadolescent versus adult cocaine exposure on cocaine conditioned place preference and motor sensitization in mice. *Psychopharmacology*, 173(1-2), 41–48.
- Scott, R. M., Hides, L., Allen, J. S., Burke, R., & Lubman, D. I. (2010). Depressive and anxiety symptomatology in ecstasy users: the relative contribution of genes, trauma, life stress and drug use. *Psychopharmacology*, 209(1), 25–36.
- Seamans, J. K., & Yang, C. R. (2004). The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Progress in neurobiology*, 74(1), 1–58.
- Segura, M., Ortuno, J., Farre, M., McLure, J. A., Pujadas, M., Pizarro, N., Llebaria, A., et al. (2001). 3,4-Dihydroxymethamphetamine (HHMA). A major in vivo 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) metabolite in humans. *Chemical research in toxicology*, 14(9), 1203–1208.
- Self, D. W., Barnhart, W. J., Lehman, D. A., & Nestler, E. J. (1996). Opposite modulation of cocaine-seeking behavior by D1- and D2-like dopamine receptor agonists. *Science*, 271(5255), 1586–1589.
- Semple, D. M., Ebmeier, K. P., Glabus, M. F., O'Carroll, R. E., & Johnstone, E. C. (1999). Reduced in vivo binding to the serotonin transporter in the cerebral cortex of MDMA ("ecstasy") users. *The British journal of psychiatry*, 175, 63–69.
- Serra, G., Collu, M., D'Aquila, P. S., & Gessa, G. L. (1992). Role of the mesolimbic dopamine system in the mechanism of action of antidepressants. *Pharmacology & toxicology*, 71 Suppl 1, 72–85.
- Sershen, H., Hashim, A., & Lajtha, A. (2010). Differences between nicotine and cocaine-induced conditioned place preferences. *Brain research bulletin*, 81(1), 120–124.
- Sessa, Ben. (2005). Can psychedelics have a role in psychiatry once again. *The British journal of psychiatry*, 186, 457–458.
- Sessa, B. (2006). Is there a case for MDMA-assisted psychotherapy in the UK? *Journal of Psychopharmacology*, 21(2):220-4.
- Sessa, Ben, & Nutt, David J. (2007). MDMA, politics and medical research: have we thrown the baby out with the bathwater. *Journal of Psychopharmacology*, 21(8), 787–791.
- Shaham, Y., Funk, D., Erb, S., Brown, T. J., Walker, C. D., & Stewart, J. (1997). Corticotropin-releasing factor, but not corticosterone, is involved in stress-induced relapse to heroin-seeking in rats. *The Journal of neuroscience*, 17(7), 2605–2614.
- Shaham, Y., & Stewart, J. (1995). Effects of restraint stress and intra-ventral tegmental area injections of morphine and methyl naltrexone on the discriminative stimulus effects of heroin in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 51(2-3), 491–498.
- Shaham, Y., & Stewart, J. (1996). Effects of opioid and dopamine receptor antagonists on relapse induced by stress and re-exposure to heroin in rats. *Psychopharmacology*, 125(4), 385–391.
- Shaham, Y., Erb, S., & Stewart, J. (2000a). Stress-induced relapse to heroin and cocaine seeking in rats: a review. *Brain research Brain research reviews*, 33(1), 13–33.
- Shaham, Y., Erb, S., Leung, S., Buczek, Y., & Stewart, J. (1998). CP-154,526, a selective, non-peptide antagonist of the corticotropin-releasing factor1 receptor attenuates stress-induced relapse to drug seeking in cocaine- and heroin-trained rats. *Psychopharmacology*, 137(2), 184–190.
- Shaham, Y., Highfield, D., Delfs, J., Leung, S., & Stewart, J. (2000b). Clonidine blocks stress-induced reinstatement of heroin seeking in rats: an effect independent of locus coeruleus noradrenergic neurons. *The European journal of neuroscience*, 12(1), 292–302.

Bibliografia.

- Shaham, Y, Rajabi, H., & Stewart, J. (1996). Relapse to heroin-seeking in rats under opioid maintenance: the effects of stress, heroin priming, and withdrawal. *The Journal of neuroscience*, 16(5), 1957–1963.
- Shaham, Yavin, Shalev, Uri, Lu, Lin, De Wit, Harriet, & Stewart, Jane. (2003). The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. *Psychopharmacology*, 168, 3–20.
- Shalev, Uri, Grimm, J. W., & Shaham, Yavin. (2002). Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review. *Pharmacological reviews*, 54(1), 1–42.
- Shalev, U, Highfield, D., Yap, J., & Shaham, Y. (2000). Stress and relapse to drug seeking in rats: studies on the generality of the effect. *Psychopharmacology*, 150(3), 337–346.
- Shankaran, M. (1998). Effect of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on hippocampal dopamine and serotonin. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 61(4):361-6.
- Shankaran, M., & Gudelsky, G A. (1999). A neurotoxic regimen of MDMA suppresses behavioral, thermal and neurochemical responses to subsequent MDMA administration. *Psychopharmacology*, 147(1), 66–72.
- Shankaran, M., Yamamoto, B K, & Gudelsky, G A. (1999a). Involvement of the serotonin transporter in the formation of hydroxyl radicals induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *European journal of pharmacology*, 385(2-3), 103–110.
- Shankaran, M., Yamamoto, B K, & Gudelsky, G A. (1999b). Mazindol attenuates the 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced formation of hydroxyl radicals and long-term depletion of serotonin in the striatum. *Journal of neurochemistry*, 72(6), 2516–2522.
- Sharma, H. S., & Ali, Syed F. (2008). Acute administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine induces profound hyperthermia, blood-brain barrier disruption, brain edema formation, and cell injury. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1139, 242–258.
- Sharpe, L. G., Pilotte, N. S., Mitchell, W. M., & De Souza, E. B. (1991). Withdrawal of repeated cocaine decreases autoradiographic [3H]mazindol-labelling of dopamine transporter in rat nucleus accumbens. *European journal of pharmacology*, 203(1), 141–144.
- Shearman, J. D., Chapman, R. W., Satsangi, J., Ryley, N. G., & Weatherhead, S. (1992). Misuse of ecstasy *BMJ (Clinical research ed)*, 305(6848), 309.
- Shen, E. Y., Ali, Syed F, & Meyer, J. S. (2011). Chronic administration of THC prevents the behavioral effects of intermittent adolescent MDMA administration and attenuates MDMA-induced hyperthermia and neurotoxicity in rats. *Neuropharmacology*.
- Shioda, K., Nisijima, K., Yoshino, T., Kuboshima, K., Iwamura, T., Yui, K., & Kato, S. (2008). Risperidone attenuates and reverses hyperthermia induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in rats. *Neurotoxicology*, 29(6), 1030–1036.
- Shippenberg, T. S., LeFevour, A., & Thompson, A. C. (1998). Sensitization to the conditioned rewarding effects of morphine and cocaine: differential effects of the kappa-opioid receptor agonist U69593. *European journal of pharmacology*, 345(1), 27–34.
- Shirayama, Y, Hashimoto, K., Iyo, M., Watanabe, K., Higuchi, T., & Minabe, Y. (2000). 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy)-induced egr-1 mRNA in rat brain: pharmacological manipulation. *European journal of pharmacology*, 402(3), 215–222.
- Shoblock, J. R., Wichmann, J., & Maidment, N. T. (2005). The effect of a systemically active ORL-1 agonist, Ro 64-6198, on the acquisition, expression, extinction, and reinstatement of morphine conditioned place preference. *Neuropharmacology*, 49(4), 439–446.

- Siegel, R. K. (1986). MDMA. Nonmedical use and intoxication. *Journal of psychoactive drugs*, 18(4), 349–354.
- Silins, E., Copeland, J., & Dillon, Paul. (2007). Qualitative review of serotonin syndrome, ecstasy (MDMA) and the use of other serotonergic substances: hierarchy of risk. *The Australian and New Zealand journal of psychiatry*, 41(8), 649–655.
- Simon, N. G., & Mattick, R. P. (2002). The impact of regular ecstasy use on memory function *Addiction*, 97(12), 1523–1529.
- Sinha, R. (2001). How does stress increase risk of drug abuse and relapse. *Psychopharmacology*, 158(4), 343–359.
- Skelton MR, Graham DL, Schaefer TL, Grace CE, Braun AA, Burns LN, Amos-Kroohs RM, Williams MT, Vorhees CV. (2011). Distinct periods of developmental sensitivity to the effects of 3,4-(±)-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on behaviour and monoamines in rats. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 28: 1–14.
- Skelton, M. R., Williams, M. T., & Vorhees, Charles V. (2006). Treatment with MDMA from P11-20 disrupts spatial learning and path integration learning in adolescent rats but only spatial learning in older rats. *Psychopharmacology*, 189(3), 307–318.
- Slikker, W., Ali, S. F., Scallet, A. C., Frith, C. H., Newport, G. D., & Bailey, J. R. (1988). Neurochemical and neurohistological alterations in the rat and monkey produced by orally administered methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *Toxicology and applied pharmacology*, 94(3), 448–457.
- Smith, R. (2003). Animal models of periadolescent substance abuse. *Neurotoxicology and teratology*, 25(3), 291–301.
- Smith, R. M., Tivarus, M., Campbell, H. L., Hillier, A., & Beversdorf, D. Q. (2006). Apparent transient effects of recent “ecstasy” use on cognitive performance and extrapyramidal signs in human subjects. *Cognitive and behavioral neurology*, 19(3), 157–164.
- Soar, K., Parrott, A C, & Fox, H C. (2004). Persistent neuropsychological problems after 7 years of abstinence from recreational Ecstasy (MDMA): a case study. *Psychological reports*, 95(1), 192–196.
- Soar, K., Turner, J J D, & Parrott, A C. (2001). Psychiatric disorders in Ecstasy (MDMA) users: a literature review focusing on personal predisposition and drug history. *Human psychopharmacology*, 16(8), 641–645.
- Soar, K., Turner, J J D, & Parrott, A C. (2006). Problematic versus non-problematic ecstasy/MDMA use: the influence of drug usage patterns and pre-existing psychiatric factors. *Journal of Psychopharmacology*, 20(3), 417–424.
- Sora, I., Wichems, C., Takahashi, N., Li, X. F., Zeng, Z., Revay, R., Lesch, K. P., et al. (1998). Cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine- and in serotonin-transporter knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(13), 7699–7704.
- Spanos, L. J., & Yamamoto, B K. (1989). Acute and subchronic effects of methylenedioxymethamphetamine [(+/-)MDMA] on locomotion and serotonin syndrome behavior in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 32(4), 835–840.
- Spear, L. (2000a). Modeling adolescent development and alcohol use in animals. *Alcohol Research & Health*, 24(2):115-23.
- Spear, L. P. (2000b). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24(4), 417–463.
- Sprague, Jon E, Moze, P., Caden, D., Rusyniak, D. E., Holmes, C., Goldstein, D. S., & Mills, E. M. (2005). Carvedilol reverses hyperthermia and attenuates rhabdomyolysis induced by 3,4-

Bibliografia.

- methylenedioxymethamphetamine (MDMA, Ecstasy) in an animal model. *Critical care medicine*, 33(6), 1311–1316.
- Sprague, J E, & Nichols, D E. (1995). The monoamine oxidase-B inhibitor L-deprenyl protects against 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced lipid peroxidation and long-term serotonergic deficits. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 273(2), 667–673.
- Sprague, J E, Banks, Matthew L, Cook, V. J., & Mills, E. M. (2003a). Hypothalamic-pituitary-thyroid axis and sympathetic nervous system involvement in hyperthermia induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (Ecstasy). *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 305(1), 159–166.
- Sprague, J E, Brutcher, R. E., Mills, E. M., Caden, D., & Rusyniak, D. E. (2004a). Attenuation of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, Ecstasy)-induced rhabdomyolysis with alpha1- plus beta3-adrenoreceptor antagonists. *British Journal of Pharmacology*, 142(4), 667–670.
- Sprague, J E, Mallett, N. M., Rusyniak, D. E., & Mills, E. (2004b). UCP3 and thyroid hormone involvement in methamphetamine-induced hyperthermia. *Biochemical pharmacology*, 68(7), 1339–1343.
- Sprague, J E, Preston, A. S., Leifheit, M., & Woodside, B. (2003b). Hippocampal serotonergic damage induced by MDMA (ecstasy): effects on spatial learning. *Physiology & behavior*, 79(2), 281–287.
- Spyraki, C., Nomikos, G. G., Galanopoulou, P., & Daifotis, Z. (1988). Drug-induced place preference in rats with 5,7-dihydroxytryptamine lesions of the nucleus accumbens. *Behavioural brain research*, 29(1-2), 127–134.
- St Omer, V. E., Ali, S. F., Holson, R. R., Duhart, H. M., Scalzo, F. M., & Slikker, W. (1991). Behavioral and neurochemical effects of prenatal methylenedioxymethamphetamine (MDMA) exposure in rats. *Neurotoxicology and teratology*, 13(1), 13–20.
- Stamford, J. (1989). Development and ageing of the rat nigrostriatal dopamine system studied with fast cyclic voltammetry. *Journal of neurochemistry*, 52(5):1582-9.
- Stanford, S. C. (1996). Prozac: panacea or puzzle. *Trends in pharmacological sciences*, 17(4), 150–154.
- Steckler, T., & Sahgal, A. (1995). The role of serotonergic-cholinergic interactions in the mediation of cognitive behaviour. *Behavioural brain research*, 67(2), 165–199.
- Stein, D. J., & Rink, J. (1999). Effects of “Ecstasy” blocked by serotonin reuptake inhibitors. *The Journal of clinical psychiatry*, 60(7), 485.
- Steketee, J. D., & Kalivas, Peter W. (2011). Drug wanting: behavioral sensitization and relapse to drug-seeking behavior. *Pharmacological reviews*, 63(2), 348–365.
- Stewart, J. (1984). Reinstatement of heroin and cocaine self-administration behavior in the rat by intracerebral application of morphine in the ventral tegmental area. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 20(6), 917–923.
- Stimmel, B. (2012). Buprenorphine in the treatment of heroin addiction: déjà vu all over again. *Journal of Addictive Diseases*, 31(1), 1-2.
- Stolerman, I., Samele, C., Kamien, J., Mariathasan, E., & Hague, D. (1995). A bibliography of drug discrimination research, 1992-1994. *Behavioural pharmacology*, 6(7), 643–668.
- Stone, D. M., Hanson, G. R., & Gibb, J. W. (1987a). Differences in the central serotonergic effects of methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in mice and rats. *Neuropharmacology*, 26(11), 1657–1661.

- Stone, D. M., Johnson, M., Hanson, G. R., & Gibb, J. W. (1987b). A comparison of the neurotoxic potential of methylenedioxyamphetamine (MDA) and its N-methylated and N-ethylated derivatives. *European journal of pharmacology*, 134(2), 245–248.
- Stone, D. M., Stahl, D. C., Hanson, G. R., & Gibb, J. W. (1986). The effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) on monoaminergic systems in the rat brain. *European journal of pharmacology*, 128(1-2), 41–48.
- Stoof, J. C., & Keibian, J. W. (1981). Opposing roles for D-1 and D-2 dopamine receptors in efflux of cyclic AMP from rat neostriatum. *Nature*, 294(5839), 366–368.
- Stove, C. P., De Letter, E. A., Piette, M. H. A., & Lambert, W. E. (2010). Mice in ecstasy: advanced animal models in the study of MDMA. *Current pharmaceutical biotechnology*, 11(5), 421–433.
- Straiko, M. M. W., Coolen, L. M., Zemlan, F. P., & Gudelsky, G. A. (2007). The effect of amphetamine analogs on cleaved microtubule-associated protein-tau formation in the rat brain. *Neuroscience*, 144(1), 223–231.
- Stuerenburg, H. J., Petersen, K., Bäumer, T., Rosenkranz, M., Buhmann, C., & Thomasius, R. (2002). Plasma concentrations of 5-HT, 5-HIAA, norepinephrine, epinephrine and dopamine in ecstasy users. *Neuro endocrinology letters*, 23(3), 259–261.
- Subhan, F., Deslandes, P. N., Pache, D. M., & Sewell, R. D. (2000a). Do antidepressants affect motivation in conditioned place preference? *European journal of pharmacology*, 408(3), 257–263.
- Subhan, F., Pache, D. M., & Sewell, R. D. (2000b). Potentiation of opioid-induced conditioned place preference by the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine. *European journal of pharmacology*, 390(1-2), 137–143.
- Sugimoto, Y., Ohkura, M., Inoue, K., & Yamada, J. (2001). Involvement of serotonergic and dopaminergic mechanisms in hyperthermia induced by a serotonin-releasing drug, p-chloroamphetamine in mice. *European journal of pharmacology*, 430(2-3), 265–268.
- Sumnall, Harry R., & Cole, Jon C. (2005). Self-reported depressive symptomatology in community samples of polysubstance misusers who report Ecstasy use: a meta-analysis. *Journal of Psychopharmacology*, 19(1), 84–92.
- Sumnall, Harry R., Cole, Jon C., & Jerome, L. (2006). The varieties of ecstatic experience: an exploration of the subjective experiences of ecstasy. *Journal of Psychopharmacology*, 20(5), 670–682.
- Sumnall, H R, O'Shea, E, Marsden, C A, & Cole, J C. (2004). The effects of MDMA pretreatment on the behavioural effects of other drugs of abuse in the rat elevated plus-maze test. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 77(4), 805–814.
- Suto, N., Austin, J. D., Tanabe, L. M., Kramer, M. K., Wright, D. A., & Vezina, P. (2002). Previous exposure to VTA amphetamine enhances cocaine self-administration under a progressive ratio schedule in a D1 dopamine receptor dependent manner. *Neuropsychopharmacology*, 27(6), 970–979.
- Szumliński, K. K., Price, K. L., Frys, K. A., & Middaugh, L. D. (2002). Unconditioned and conditioned factors contribute to the “reinstatement” of cocaine place conditioning following extinction in C57BL/6 mice. *Behavioural brain research*, 136(1), 151–160.
- Taffe, M A, Weed, M. R., Davis, S., Huitrón-Resendiz, S., Schroeder, R., Parsons, L. H., Henriksen, S. J., et al. (2001). Functional consequences of repeated (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) treatment in rhesus monkeys. *Neuropsychopharmacology*, 24(3), 230–239.

Bibliografia.

- Taffe, Michael A, Davis, S. A., Yuan, J., Schroeder, R., Hatzidimitriou, G., Parsons, L. H., Ricaurte, G. A., et al. (2002). Cognitive performance of MDMA-treated rhesus monkeys: sensitivity to serotonergic challenge. *Neuropsychopharmacology*, 27(6), 993–1005.
- Taffe, Michael A, Lay, C. C., Huben, Von, S. N., Davis, S. A., Crean, R. D., & Katner, S. N. (2006). Hyperthermia induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine in unrestrained rhesus monkeys. *Drug and alcohol dependence*, 82(3), 276–281.
- Takamatsu, Y., Yamamoto, H., Ogai, Y., Hagino, Y., Markou, A., & Ikeda, K. (2006). Fluoxetine as a potential pharmacotherapy for methamphetamine dependence: studies in mice. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1074, 295–302.
- Tamburini, I., Blandini, F., Gesi, M., Frenzilli, G., Nigro, M., Giusiani, M., Paparelli, A., et al. (2006). MDMA induces caspase-3 activation in the limbic system but not in striatum. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1074, 377–381.
- Tancer, M., & Johanson, C.-E. (2003). Reinforcing, subjective, and physiological effects of MDMA in humans: a comparison with d-amphetamine and mCPP. *Drug Alcohol Depend*, 72(1), 33–44.
- Tancer, M., & Johanson, C.-E. (2007). The effects of fluoxetine on the subjective and physiological effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in humans. *Psychopharmacology*, 189(4), 565–573.
- Tanda, G., Carboni, E., Frau, R., & Di Chiara, G. (1994). Increase of extracellular dopamine in the prefrontal cortex: a trait of drugs with antidepressant potential. *Psychopharmacology*, 115(1-2), 285–288.
- Taraska, T., & Finnegan, K. T. (1997). Nitric oxide and the neurotoxic effects of methamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 280(2), 941–947.
- Tarazi, F. I., Tomasini, E. C., & Baldessarini, R. J. (1998a). Postnatal development of dopamine D4-like receptors in rat forebrain regions: comparison with D2-like receptors. *Brain research Developmental brain research*, 110(2), 227–233.
- Tarazi, F. I., Tomasini, E. C., & Baldessarini, R. J. (1998b). Postnatal development of dopamine and serotonin transporters in rat caudate-putamen and nucleus accumbens septi. *Neuroscience letters*, 254(1), 21–24.
- Tarazi, F., & RJ, B. (2000). Comparative postnatal development of dopamine D1, D2 and D4 receptors in rat forebrain. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 18(1):29-37.
- Teitler, M., Leonhardt, S., Appel, N. M., De Souza, E. B., & Glennon, R. A. (1990). Receptor pharmacology of MDMA and related hallucinogens. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 600, 626–39.
- Tella, S. R. (1995). Effects of monoamine reuptake inhibitors on cocaine self-administration in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 51(4), 687–692.
- Thomas, D. M., Dowgiert, J., Geddes, T. J., Francescutti-Verbeem, D., Liu, X., & Kuhn, D. M. (2004). Microglial activation is a pharmacologically specific marker for the neurotoxic amphetamines. *Neuroscience letters*, 367(3), 349–354.
- Thomasius, R., Petersen, K., Buchert, R., Andresen, B., Zapletalova, P., Wartberg, L., Nebeling, B., et al. (2003). Mood, cognition and serotonin transporter availability in current and former ecstasy (MDMA) users. *Psychopharmacology*, 167(1), 85–96.
- Thomasius, R., Zapletalova, P., Petersen, K., Buchert, R., Andresen, B., Wartberg, L., Nebeling, B., et al. (2006). Mood, cognition and serotonin transporter availability in current and former

- ecstasy (MDMA) users: the longitudinal perspective. *Journal of Psychopharmacology*, 20(2), 211–225.
- Thompson, Murray R, Li, K. M., Clemens, K. J., Gurtman, C. G., Hunt, G. E., Cornish, J. L., & McGregor, I. S. (2004). Chronic fluoxetine treatment partly attenuates the long-term anxiety and depressive symptoms induced by MDMA ("Ecstasy") in rats. *Neuropsychopharmacology*, 29(4), 694–704.
- Thompson, Murray R, Callaghan, Paul D, Hunt, Glenn E, & McGregor, Iain S. (2008). Reduced sensitivity to MDMA-induced facilitation of social behaviour in MDMA pre-exposed rats. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 32(4), 1013–1021.
- Thompson, M R, Callaghan, P D, Hunt, G E, Cornish, J L, & McGregor, I S. (2007). A role for oxytocin and 5-HT(1A) receptors in the prosocial effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy"). *Neuroscience*, 146(2), 509–514.
- Thompson, M R, Hunt, G E, & McGregor, I S. (2009). Neural correlates of MDMA ("Ecstasy")-induced social interaction in rats. *Social Neuroscience*, 4(1), 60–72. Taylor & Francis Group.
- Tiangco, D. A., Halcomb, S., Lattanzio, F. A., & Hargrave, B. Y. (2010). 3,4-Methylenedioxymethamphetamine Alters Left Ventricular Function and Activates Nuclear Factor-Kappa B (NF- κ B) in a Time and Dose Dependent Manner. *International journal of molecular sciences*, 11(12), 4843–4863.
- Timár, J., Gyarmati, S., Szabó, A., & Fürst, S. (2003). Behavioural changes in rats treated with a neurotoxic dose regimen of dextrorotatory amphetamine derivatives. *Behavioural pharmacology*, 14(3), 199–206.
- Tinsley, J. A., Olsen, M. W., Laroche, R. R., & Palmen, M. A. (1994). Fluoxetine abuse. *Mayo Clinic proceedings*, 69(2), 166–168.
- Topp, L, Hando, J., Dillon, P, Roche, A., & Solowij, N. (1999). Ecstasy use in Australia: patterns of use and associated harm. *Drug and alcohol dependence*, 55(1-2), 105–115.
- Torre, R., Farre, M., Roset, P. N., López, C. H., Mas, M., Ortuno, J., Menoyo, E., Pizarro, N., Segura, J., & Camí, J. (2006). Pharmacology of MDMA in Humans. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 914(1), 225–237.
- Touriño, C., Ledent, C., Maldonado, Rafael, & Valverde, Olga. (2008). CB1 cannabinoid receptor modulates 3,4-methylenedioxymethamphetamine acute responses and reinforcement. *Biological psychiatry*, 63(11), 1030–1038.
- Touriño, C., Maldonado, Rafael, & Valverde, Olga. (2007). MDMA attenuates THC withdrawal syndrome in mice. *Psychopharmacology*, 193(1), 75–84.
- Touriño, C., Zimmer, A., & Valverde, Olga. (2010). THC Prevents MDMA Neurotoxicity in Mice. *PLoS one*, 5(2), e9143.
- Trigo, José Manuel, Renoir, T., Lanfumey, L., Hamon, M., Lesch, K.-P., Robledo, P., & Maldonado, R. (2007). 3,4-methylenedioxymethamphetamine self-administration is abolished in serotonin transporter knockout mice. *Biological psychiatry*, 62(6), 669–679.
- Trigo, José Manuel, Cabrero-Castel, A., Berrendero, F., Maldonado, Rafael, & Robledo, P. (2008). MDMA modifies active avoidance learning and recall in mice. *Psychopharmacology*, 197(3), 391–400.
- Trigo, José Manuel, Orejarena, M. J., Maldonado, Rafael, & Robledo, P. (2009). MDMA reinstates cocaine-seeking behaviour in mice. *European Neuropsychopharmacology*, 19(6), 391–397.
- Trigo, José Manuel, Panayi, F., Soria, G., Maldonado, Rafael, & Robledo, P. (2006). A reliable model of intravenous MDMA self-administration in naïve mice. *Psychopharmacology*, 184(2), 212–220.

Bibliografía.

- Tzschentke, T M. (1998). Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. *Progress in neurobiology*, 56(6), 613–672.
- Tzschentke, Thomas M. (2007). Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade. *Addiction biology*, 12(3-4), 227–462.
- Unidas, N. (2011). informe Mundial sobre las Drogas 2011, 1–32.
- Vaiva, G., Boss, V., Bailly, D., Thomas, P., Lestavel, P., & Goudemand, M. (2001). An “accidental” acute psychosis with ecstasy use. *Journal of psychoactive drugs*, 33(1), 95–98.
- Vallone, D., Picetti, R., & Borrelli, E. (2000). Structure and function of dopamine receptors. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24(1), 125–132.
- Van Kampen, J., & Katz, M. (2001). Persistent psychosis after a single ingestion of 'ecstasy'. *Psychosomatics*, 42(6), 525–527.
- van Nieuwenhuijzen, P. S., Long, L. E., Hunt, Glenn E, Arnold, J. C., & McGregor, Iain S. (2010). Residual social, memory and oxytocin-related changes in rats following repeated exposure to γ -hydroxybutyrate (GHB), 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) or their combination. *Psychopharmacology*, 212(4), 663–674.
- Varela, M. J., Brea, J., Loza, M. I., Maldonado, Rafael, & Robledo, P. (2011). Sensitization to MDMA locomotor effects and changes in the functionality of 5-HT_{2A} and D₂ receptors in mice. *Behavioural pharmacology*, 22(4), 362–369.
- Vecellio, M., Schopper, C., & Modestin, J. (2003). Neuropsychiatric consequences (atypical psychosis and complex-partial seizures) of ecstasy use: possible evidence for toxicity-vulnerability predictors and implications for preventative and clinical care. *Journal of Psychopharmacology*, 17(3), 342–345.
- Veeneman, M. M. J., Broekhoven, M. H., Damsteegt, R., & Vanderschuren, L. J. M. J. (2012). Distinct Contributions of Dopamine in the Dorsolateral Striatum and Nucleus Accumbens Shell to the Reinforcing Properties of Cocaine. *Neuropsychopharmacology*, 37(2):487-98
- Verheyden, S. L., Hadfield, J., Calin, T., & Curran, H Valerie. (2002). Sub-acute effects of MDMA (+/-3,4-methylenedioxymethamphetamine, “ecstasy”) on mood: evidence of gender differences. *Psychopharmacology*, 161(1), 23–31.
- Verheyden, S. L., Henry, John A, & Curran, H Valerie. (2003). Acute, sub-acute and long-term subjective consequences of “ecstasy” (MDMA) consumption in 430 regular users. *Human psychopharmacology*, 18(7), 507–517.
- Verkes, R. J., Gijssman, H. J., Pieters, M. S., Schoemaker, R. C., de Visser, S., Kuijpers, M., Pennings, E. J., et al. (2001). Cognitive performance and serotonergic function in users of ecstasy. *Psychopharmacology*, 153(2), 196–202.
- Verrico, C. D., Miller, G. M., & Madras, B. K. (2007). MDMA (Ecstasy) and human dopamine, norepinephrine, and serotonin transporters: implications for MDMA-induced neurotoxicity and treatment. *Psychopharmacology*, 189(4), 489–503.
- Vervaeke, H. K. E., van Deursen, L., & Korf, D. J. (2008). The role of peers in the initiation and continuation of ecstasy use. *Substance use & misuse*, 43(5), 633–646.
- Volkow, N D, Fowler, J. S., Wang, G-J, & Swanson, J. M. (2004). Dopamine in drug abuse and addiction: results from imaging studies and treatment implications. *Molecular psychiatry*, 9(6), 557–569.
- Vollenweider, F X, Gamma, A., Liechti, M, & Huber, T. (1998). Psychological and cardiovascular effects and short-term sequelae of MDMA (“ecstasy”) in MDMA-naïve healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology*, 19(4), 241–251.

- Vorhees, Charles V, Schaefer, T. L., Skelton, M. R., Grace, C. E., Herring, N. R., & Williams, M. T. (2009). (+/-)-3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) Dose-Dependently Impairs Spatial Learning in the Morris Water Maze after Exposure of Rats to Different Five-Day Intervals from Birth to Postnatal Day Twenty. *Developmental neuroscience*, 31(1-2), 107–120.
- Vorhees, Charles V, Reed, T. M., Skelton, M. R., & Williams, M. T. (2004). Exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on postnatal days 11-20 induces reference but not working memory deficits in the Morris water maze in rats: implications of prior learning. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 22(5-6), 247–259.
- Wakonigg, G., Sturm, K., Saria, Alois, & Zernig, Gerald. (2003). Methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") serves as a robust positive reinforcer in a rat runway procedure. *Pharmacology*, 69(4), 180–182.
- Walker, Q. D., Williams, C. N., Jotwani, R. P., Waller, S. T., Francis, R., & Kuhn, C. M. (2007). Sex differences in the neurochemical and functional effects of MDMA in Sprague-Dawley rats. *Psychopharmacology*, 189(4), 435–445.
- Wallace, T. L., Gudelsky, G A, & Vorhees, C V. (2001). Alterations in diurnal and nocturnal locomotor activity in rats treated with a monoamine-depleting regimen of methamphetamine or 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *Psychopharmacology*, 153(3), 321–326.
- Wang, Bin, Luo, Fei, Ge, X.-C., Fu, A.-H., & Han, J.-S. (2002). Effects of lesions of various brain areas on drug priming or footshock-induced reactivation of extinguished conditioned place preference. *Brain research*, 950(1-2), 1–9.
- Wang, B, Luo, F, Zhang, W T, & Han, J. S. (2000). Stress or drug priming induces reinstatement of extinguished conditioned place preference. *Neuroreport*, 11(12), 2781–2784.
- Wang, X, Baumann, M H, Dersch, C. M., & Rothman, R B. (2007). Restoration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced 5-HT depletion by the administration of L-5-hydroxytryptophan. *Neuroscience*, 148(1), 212–220.
- Wang, Xiaoying, Baumann, Michael H, Xu, Heng, & Rothman, Richard B. (2004). 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) administration to rats decreases brain tissue serotonin but not serotonin transporter protein and glial fibrillary acidic protein. *Synapse*, 53(4), 240–248.
- Wang, Xiaoying, Baumann, Michael H, Xu, Heng, Morales, M., & Rothman, Richard B. (2005). (+/-)-3,4-Methylenedioxymethamphetamine administration to rats does not decrease levels of the serotonin transporter protein or alter its distribution between endosomes and the plasma membrane. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 314(3), 1002–1012.
- Ward, J., Hall, K., & Haslam, C. (2006). Patterns of memory dysfunction in current and 2-year abstinent MDMA users. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 28(3), 306–324.
- Wareing, M, Fisk, J E, & Murphy, P N. (2000). Working memory deficits in current and previous users of MDMA ("ecstasy"). *British journal of psychology*, 91, 181–188.
- Wareing, Michelle, Fisk, John E, Murphy, Philip, & Montgomery, Catharine. (2004a). Verbal working memory deficits in current and previous users of MDMA. *Human psychopharmacology*, 19(4), 225–234.
- Wareing, Michelle, Fisk, John E, Murphy, Philip, & Montgomery, Catharine. (2005). Visuo-spatial working memory deficits in current and former users of MDMA ("ecstasy"). *Human psychopharmacology*, 20(2), 115–123.
- Wareing, Michelle, Murphy, Philip N, & Fisk, John E. (2004b). Visuospatial memory impairments in users of MDMA ("ecstasy"). *Psychopharmacology*, 173(3-4), 391–397.

Bibliografia.

- Watson, L., & Beck, J. (1991). New age seekers: MDMA use as an adjunct to spiritual pursuit. *Journal of psychoactive drugs*, 23(3), 261–270.
- Weiss, Friedbert. (2005). Neurobiology of craving, conditioned reward and relapse. *Current opinion in pharmacology*, 5(1), 9–19.
- Weiss, F., Maldonado-Vlaar, C. S., Parsons, L. H., Kerr, T. M., Smith, D. L., & Ben-Shahar, O. (2000). Control of cocaine-seeking behavior by drug-associated stimuli in rats: effects on recovery of extinguished operant-responding and extracellular dopamine levels in amygdala and nucleus accumbens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(8), 4321–4326.
- White, S. R., Duffy, P., & Kalivas, P. W. (1994). Methylendioxyamphetamine depresses glutamate-evoked neuronal firing and increases extracellular levels of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens in vivo. *Neuroscience*, 62(1), 41–50.
- White, S. R., Obradovic, T., Imel, K. M., & Wheaton, M. J. (1996). The effects of methylendioxyamphetamine (MDMA, "Ecstasy") on monoaminergic neurotransmission in the central nervous system. *Progress in neurobiology*, 49(5), 455–479.
- Whitehead, C. C. (1974). Methadone pseudowithdrawal syndrome: paradigm for a psychopharmacological model of opiate addiction. *Psychosomatic medicine*, 36(3), 189–198.
- Wichems, C. H., Hollingsworth, C. K., & Bennett, B. A. (1995). Release of serotonin induced by 3,4-methylendioxyamphetamine (MDMA) and other substituted amphetamines in cultured fetal raphe neurons: further evidence for calcium-independent mechanisms of release. *Brain research*, 695(1), 10–18.
- Will, Matthew J, Der-Avakian, A., Bland, S. T., Grahn, R. E., Hammack, S. E., Sparks, P. D., Pepin, J. L., et al. (2004). Electrolytic lesions and pharmacological inhibition of the dorsal raphe nucleus prevent stressor potentiation of morphine conditioned place preference in rats. *Psychopharmacology*, 171(2), 191–198.
- Will, M J, Watkins, L. R., & Maier, S. F. (1998). Uncontrollable stress potentiates morphine's rewarding properties. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 60(3), 655–664.
- Williams, H., Meagher, D., & Galligan, P. (1993). M.D.M.A. ("Ecstasy"); a case of possible drug-induced psychosis. *Irish journal of medical science*, 162(2), 43–44.
- Williams, M. T., Morford, L. L., Wood, S. L., Rock, S. L., McCrea, A. E., Fukumura, M., Wallace, T. L., et al. (2003). Developmental 3,4-methylendioxyamphetamine (MDMA) impairs sequential and spatial but not cued learning independent of growth, litter effects or injection stress. *Brain research*, 968(1), 89–101.
- Williams, M. T., Schaefer, T. L., Ehrman, L. A., Able, J. A., Gudelsky, G. A., Sah, R., & Vorhees, C. V. (2005). 3,4-Methylendioxyamphetamine administration on postnatal day 11 in rats increases pituitary-adrenal output and reduces striatal and hippocampal serotonin without altering SERT activity. *Brain research*, 1039(1-2), 97–107.
- Willuhn, I., Wanat, M. J., Clark, J. J., & Phillips, P. E. M. (2010). Dopamine signaling in the nucleus accumbens of animals self-administering drugs of abuse. *Current topics in behavioral neurosciences*, 3, 29–71.
- Windhaber, J., Maierhofer, D., & Dantendorfer, K. (1998). Panic disorder induced by large doses of 3,4-methylendioxyamphetamine resolved by paroxetine. *Journal of clinical psychopharmacology*, 18(1), 95–96.
- Winsauer, P. J., McCann, U. D., Yuan, J., Delatte, M. S., Stevenson, M. W., Ricaurte, G. A., & Moerschbaecher, J. M. (2002). Effects of fenfluramine, m-CPP and triazolam on repeated-acquisition in squirrel monkeys before and after neurotoxic MDMA administration. *Psychopharmacology*, 159(4), 388–396.

- Winstanley, E. L., Bigelow, G. E., Silverman, K., Johnson, R. E., & Strain, E. C. (2011). A randomized controlled trial of fluoxetine in the treatment of cocaine dependence among methadone-maintained patients. *Journal of substance abuse treatment*, 40(3), 255–264.
- Winstock, A. R. (1991). Chronic paranoid psychosis after misuse of MDMA. *BMJ (Clinical research ed)*, 302(6785), 1150–1151.
- Wise, R. A. (2005). Forebrain substrates of reward and motivation. *The Journal of comparative neurology*, 493(1), 115–121.
- Wolff, K. (2006). Vasopressin and oxytocin secretion in response to the consumption of ecstasy in a clubbing population. *Journal of Psychopharmacology*, 20(3), 400–410.
- Wyeth, R. P., Mills, E. M., Ullman, A., Kenaston, M. A., Burwell, J., & Sprague, J. E. (2009). The hyperthermia mediated by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, Ecstasy) is sensitive to sex differences. *Toxicology and applied pharmacology*, 235(1), 33–38.
- Xie, T., McCann, U D, Kim, S., Yuan, J, & Ricaurte, G A. (2000). Effect of temperature on dopamine transporter function and intracellular accumulation of methamphetamine: implications for methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity. *The Journal of Neuroscience*, 7838–7845.
- Xu, M, Guo, Y., Vorhees, C V, & Zhang, J. (2000). Behavioral responses to cocaine and amphetamine administration in mice lacking the dopamine D1 receptor. *Brain research*, 852(1), 198–207.
- Yamamoto, B K, & Spanos, L. J. (1988). The acute effects of methylenedioxymethamphetamine on dopamine release in the awake-behaving rat. *European journal of pharmacology*, 148(2), 195–203.
- Yamamoto, B K, Nash, J F, & Gudelsky, G A. (1995). Modulation of methylenedioxymethamphetamine-induced striatal dopamine release by the interaction between serotonin and gamma-aminobutyric acid in the substantia nigra. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 273(3), 1063–1070.
- Yu, D. S., Smith, F. L., Smith, D. G., & Lyness, W. H. (1986). Fluoxetine-induced attenuation of amphetamine self-administration in rats. *Life sciences*, 39(15), 1383–1388.
- Yuan, Jie, Cord, B. J., McCann, Una D, Callahan, B. T., & Ricaurte, George A. (2002). Effect of depleting vesicular and cytoplasmic dopamine on methylenedioxymethamphetamine neurotoxicity. *Journal of neurochemistry*, 80(6), 960–969.
- Yurgelun-Todd, D. (2007). Emotional and cognitive changes during adolescence. *Current Opinion in Neurobiology*, 17(2):251-7.
- Zangen, A., Nakash, R., & Yadid, G. (1999). Serotonin-mediated increases in the extracellular levels of beta-endorphin in the arcuate nucleus and nucleus accumbens: a microdialysis study. *Journal of neurochemistry*, 73(6), 2569–2574.
- Zemishlany, Z., Aizenberg, D., & Weizman, A. (2001). Subjective effects of MDMA (“Ecstasy”) on human sexual function. *European psychiatry*, 16(2), 127–130.
- Zhang, Lin, Shirayama, Yukihiko, Shimizu, E., Iyo, M., & Hashimoto, K. (2006). Protective effects of minocycline on 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced neurotoxicity in serotonergic and dopaminergic neurons of mouse brain. *European journal of pharmacology*, 544(1-3), 1–9.
- Zheng YW, Lavery R (1993) Neurotoxic effects of MDMA in different strains of mice. *Proc Univ Otago Med Sch* 71:5–6.
- Zuckerman, M. (1979). *Sensation seeking: Beyond the optimal level of arousal*. Hillsdale.