
Neurobiología de la adicción a opiáceos.

OLGA VALVERDE; RAFAEL MALDONADO.

Enviar correspondencia a: Rafael Maldonado. Laboratori de Neurofarmacologia, Facultat de Ciències de la Salut i de la Vida, Universitat Pompeu Fabra, C/Dr Aiguader 80, 08003 Barcelona, España. Telephone: 93-542-2845. Fax: 93-542-2802. Email: rafael.maldonado@upf.edu

RESUMEN

Los opiáceos poseen una gran capacidad adictiva y su administración incontrolada produce una serie de cambios adaptativos a nivel celular y molecular en diversos sistemas neuroquímicos que origina la aparición de un cuadro de dependencia. Los fenómenos adictivos inducidos por los opioides y otras drogas de abuso están relacionados tanto con los efectos reforzantes de estas drogas como con la necesidad que se genera en el adicto para paliar las consecuencias negativas de la ausencia de las mismas. Estudios bioquímicos, farmacológicos, electrofisiológicos y moleculares han identificado diversos sistemas neuroquímicos que constituyen un sustrato común para los efectos reforzantes inducidos por diferentes drogas de abuso incluidos los opioides. Este sustrato integra al sistema mesolímbico y en particular a dos sistemas neuroquímicos, el dopaminérgico y el opioide. El sistema dopaminérgico mesolímbico junto con los circuitos cerebrales que controlan las respuestas al estrés representan el principal sustrato neurobiológico para las manifestaciones motivacionales de la abstinencia de opioides. Finalmente, los opiáceos inducen algunas modificaciones persistentes a nivel de determinados factores de transcripción que podrían participar en la mayor vulnerabilidad para la recaída incluso después de un periodo prolongado de ausencia de consumo de droga.

Palabras clave: *Opioide, morfina, heroína, sistema mesolímbico, dopamina, noradrenalina, CRF, Δ FosB*

ABSTRACT

Opiate drugs are highly addictive substances. Opiates produce acute and long-term adaptive changes at cellular and molecular level in the central nervous system that are responsible for the addictive disorder. Reinforcing effects of opiates (euphoria, well being) are involved in the initiation of the opiate use, while negative effects (dysphoria during the abstinence) are responsible for the maintenance of the addictive behaviour. Biochemical, pharmacological, electrophysiological and molecular studies have identified several neurochemical pathways within the mesolimbic system as a common neurobiological substrate for the reinforcing effects of all the drugs of abuse, including opiates. The mesolimbic dopaminergic system and the neural pathways involved in the physiological responses to stress mediate the motivational negative effects associated to opiate withdrawal. Finally, opiates produce long-term adaptive changes at the level of several transcription factors that could participate in the increased vulnerability to relapse in the addictive behaviour observed even after long periods of drug abstinence..

Key words: *Opioid, morphine, heroin, mesolimbic system, dopamine, norepinephrine, CRF, Δ FosB.*

Los opiáceos son compuestos que poseen propiedades farmacológicas de un alto interés terapéutico y han sido ampliamente utilizados en clínica sobre todo por sus efectos analgésicos. Sin embargo, estas sustancias tienen una gran capacidad adictiva y su administración incontrolada produce una serie de modificaciones en el organismo que origina la aparición de un cuadro de dependencia. Estos procesos se desarrollan como consecuencia de los cambios adaptativos a nivel celular y molecular que se producen en diversos sistemas neuroquímicos a nivel del sistema nervioso central en respuesta a la presencia repetida de la droga, y que persisten durante un largo período de tiempo incluso después que la administración del opioide es interrumpida.

PRINCIPALES COMPUESTOS OPIÁCEOS

Se denominan sustancias opiáceas todos aquellos compuestos extraídos del opio así como sus derivados semisintéticos. No obstante, actualmente se prefiere utilizar el término opioide que englobaría a todas aquellas sustancias naturales, semisintéticas o sintéticas con propiedades farmacológicas próximas a la morfina. La morfina fue aislada a partir de extractos de opio a principios del siglo XIX y en los años sucesivos se describieron multitud de otros alcaloides obtenidos a partir de dichos extractos. La estructura química de todas estas sustancias ha sido identificada y actualmente se conocen 20 alcaloides distintos extraídos del opio, entre ellos la codeína, la narcotina, la tebaína, la papaverina, la noscapina, la gnoscopina o la xantalina (Goodman-Gilman, Rall, Nies, Taylor, 1996). Además de estos alcaloides naturales, un gran número de compuestos de carácter opiáceo ha sido obtenido por modificación química de dichas sustancias (opiáceos semisintéticos) o por desarrollo de nuevas moléculas (opioides sintéticos). Con el objetivo de mejorar la acción analgésica de la morfina y disminuir su capacidad de inducir abuso se realizó a finales del siglo XIX

la síntesis del primer derivado semisintético de la morfina, la heroína. Poco después de su descubrimiento, la heroína fue retirada de la farmacopea debido a su toxicidad y sobre todo a la elevada capacidad para provocar fenómenos de dependencia. Muchos otros derivados semisintéticos han sido sintetizados tras modificaciones relativamente simples de la molécula de morfina. A pesar de la gran cantidad de compuestos de naturaleza opiáceo que han sido sintetizados, no ha sido aún posible obtener fármacos que presenten un grado menor de efectos indeseables conservando las principales propiedades terapéuticas. Así pues, la morfina sigue siendo en la actualidad uno de los opiáceos más utilizados en aquellos casos en los que se pretende obtener una respuesta analgésica de gran intensidad.

MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS OPIÁCEOS

Los opiáceos producen sus acciones biológicas gracias a la fijación de una manera reversible y selectiva a unos receptores de membrana que se encuentran localizados predominantemente en el sistema nervioso. La existencia de estos sitios específicos de fijación para los opiáceos en el sistema nervioso de los mamíferos fue realizada en el año 1973, momento en el que pudieron ser identificados como los responsables de las acciones farmacológicas inducidas por estas sustancias (Pert y Snyder, 1973; Simon, Hiller y Edelman, 1973; Terenius, 1973). La gran variedad de respuestas farmacológicas producidas por la administración de opiáceos condujo a postular la hipótesis de la existencia de una multiplicidad de receptores específicos, incluso antes de que estos fueran descubiertos (Martin y Eades, 1967). La existencia de diferentes tipos de receptores opioides fue demostrada por primera vez en un modelo de perro espinal (Gilbert y Martin, 1976; Martin et al., 1976). Estudios farmacológicos y bioquímicos posteriores sugirieron la existencia de cinco tipos diferentes de receptores opioides:

mu, delta, kappa, sigma y épsilon (Bloom y Kupfer, 1995). Actualmente se reconoce la existencia de tres tipos mayores de receptores opioides que corresponden a los receptores mu, delta y kappa, y cuyas características moleculares, bioquímicas y farmacológicas se encuentran bien definidas (Goodman-Gilman et al., 1996). El significado de los receptores épsilon es puesta en duda por ciertos autores, y los conocimientos que de ellos se tiene son restringidos. Con respecto a los receptores sigma, en la actualidad no se considera que pertenezcan al grupo de los receptores opioides (Hill, 1997), ya que poseen características funcionales completamente diferentes a los tres receptores opioides clásicos (Shearman y Herz, 1982). A pesar del largo período de tiempo transcurrido desde el descubrimiento de los receptores opioides, el clonaje de dichos receptores tuvo lugar tan solo la década pasada. El receptor opioide delta fue el primero en ser clonado mediante el empleo de técnicas basadas en la amplificación selectiva del ADN genómico (Kieffer, Befort, Gaveriaux-Ruff y Hirth, 1992; Evans, Keith, Morrison H, Magendzo y Edwards, 1992). El receptor opioide mu fue clonado un año más tarde basándose en la posible analogía de secuencia con la del receptor delta (Chen, Mestek, Liu, Hurley y Yu, 1993; Thompson, Mansour, Akil y Watson, 1993). Ese mismo año también se realizó por el mismo procedimiento el clonaje del receptor opioide kappa (Meng, Xie, Thompson, Mansour, Watson y Akil, 1993; Yasuda, Raynor, Kong, Breder, Reisene y Bell, 1993).

En el año 1975, dos años más tarde del descubrimiento de los receptores opioides, fueron identificados en el cerebro dos pentapéptidos que poseían propiedades morfomiméticas y que se identificaron como los agentes endógenos responsables de la activación de dichos receptores. Estos péptidos se diferenciaban tan sólo en el aminoácido situado en el extremo amino-terminal. Así, el que poseía la metionina como último aminoácido de su cadena recibió el nombre de met-enkefalina, y leu-enkefalina al que contenía leucina en el mismo lugar (Hughes,

Smith y Kosterlitz, 1975). Poco después de este descubrimiento, la familia de los péptidos opioides endógenos se enriqueció rápidamente con nuevos péptidos que contenían la secuencia de la met- o de la leu-enkefalina en su fracción amino-terminal (Patey y Rossier, 1986). Actualmente se conocen tres precursores que dan lugar a tres familias diferentes de péptidos opioides: la proopiomelanocortina (Nakanaski, Inoue, Kita, Nakamura, Chang, Cohen et al., 1979), la proenkefalina A o proenkefalina (Comb, Seeburg, Adelman, Eiden y Herbert, 1982; Noda, Furutani, Takahashi, Toyosato, Hirose, Inayama et al., 1982), y la proenkefalina B o prodinorfina (Kakidani, Furutani, Takahashi, Noda, Morimoto, Hirose et al., 1982). El principal péptido opioide derivado de la proopiomelanocortina es la beta-endorfina, que tiene una buena afinidad por los receptores opioides mu y su distribución anatómica está restringida a ciertas estructuras neuronales (Khachaturian, Lewis, Schäfer y Watson, 1985). Los principales derivados de la proenkefalina A son las enkefalinas, met- y leu-enkefalina, las cuales están presentes en la mayor parte de las estructuras del sistema nervioso central y activan preferencialmente los receptores opioides delta (Rossier, Vargo, Minick, Ling, Bloom y Guillemin, 1977). Los derivados de la prodinorfina son principalmente las dinorfinas y neoendorfinas, ambos grupos de péptidos con afinidades preferenciales por los receptores opioides kappa, y la leu-enkefalina (afinidad preferencial por los receptores opioides delta). Los derivados de este precursor se encuentran también ampliamente distribuidos dentro del sistema nervioso central (Khachaturian et al., 1985). A diferencia de las monoaminas y aminoácidos, cuya inactivación en la transmisión sináptica se realiza en su mayor parte por un mecanismo de recaptación, los péptidos opioides son inactivados por degradación enzimática a través de dos peptidasas que los transforman en fragmentos inactivos: la endopeptidasa neutra (enkefalinas) y la aminopeptidasa N (Roques, Noble, Daugé, Fournié-Zaluski y Beaumont, 1993). Un nuevo grupo de péptidos opioides con una gran afinidad y selectividad por los receptores opioides mu, las endomorfina

(endomorfin-1 y endomorfin-2), fue descrito en el año 1997 (Zadina, Hackler, Ge y Kastin, 1997). Sin embargo, la ausencia en el genoma humano de la secuencia correspondiente a dichos péptidos pone claramente en duda su posible existencia como moléculas endógenas.

La activación de los diferentes receptores opioides ya sea por agonistas exógenos o endógenos produce por lo general efectos de tipo inhibitorio sobre la transmisión sináptica. Aunque la localización de dichos receptores es variable, se encuentran principalmente ubicados en terminales de fibras presinápticas y su activación resulta en una disminución en la liberación de neurotransmisores. Los tres subtipos de receptores opioides poseen siete hélices transmembranarias y se encuentran acoplados a proteínas G que van a controlar el grado de fosforilación de nucleótidos de guanina. A través de una modificación en la estructura de estas proteínas G se producirá una inhibición en la actividad del enzima adenilato ciclasa y ello da lugar a una disminución en los niveles intracelulares de AMPc. Dicha disminución de AMPc precipita una cascada de acontecimientos intracelulares, incluida la disminución de la actividad de un segundo enzima, la proteína quinasa A. Esta quinasa se encarga de la fosforilación de toda una serie de proteínas entre ellas ciertos factores de transcripción como CREB (cyclicAMP-responsive element-binding protein). Los factores de transcripción son los encargados de controlar la respuesta genómica de la célula y de esta manera los opiáceos van a ser capaces de intervenir sobre dicha respuesta. Otros sistemas de señalización intracelular tales como la vía de la fosfolipasa C y de las MAP kinasas también se encuentran implicados en las acciones intracelulares de los opiáceos (Goodman-Gilman et al., 1996).

EL PROCESO ADICTIVO Y SU EVALUACIÓN EXPERIMENTAL

El proceso adictivo es un trastorno crónico y recidivante que lleva a un comportamiento de búsqueda compulsiva de la droga, pérdida del control del autoconsumo a pesar de los efectos perjudiciales del mismo y fenómenos de recidiva incluso tras largos periodos de abstinencia (Deroche-Gamonet, Belin y Piazza, 2004; Vanderschuren y Everitt, 2004). Esta situación conduce al individuo a una progresiva desestructuración de todas las actividades sociales y ocupacionales (Camí y Farré, 2003).

Los diferentes procesos que participan en los fenómenos adictivos son complejos tanto desde un punto de vista neurobiológico como comportamental y dan lugar a toda una serie de manifestaciones que incluyen fenómenos tales como la tolerancia, dependencia física, sensibilización y búsqueda compulsiva o "craving." Los fenómenos de tolerancia y la dependencia física corresponden a adaptaciones desarrolladas en respuesta a una exposición prolongada a determinadas drogas, pero no están directamente relacionadas con las propiedades adictivas que presenta la droga de abuso en cuestión. Existen distintos modelos que permiten evaluar la tolerancia y la dependencia física en el animal de experimentación. La cuantificación de las manifestaciones somáticas del síndrome de abstinencia que aparece tras la interrupción de la administración repetida de una droga permite determinar la severidad de la dependencia física. Dicho síndrome de abstinencia físico aparece tan solo con determinadas drogas de abuso, como los opioides entre otras, y es un proceso diferente de las manifestaciones motivacionales negativas que aparecen tras la abstinencia a cualquier droga de abuso. La tolerancia puede determinarse por la evaluación de la disminución de los efectos farmacológicos de una droga tras su administración repetida (Jaffe, 1990). Una característica común de las diferentes drogas de abuso es su capacidad para inducir un comportamiento de búsqueda compulsiva o

“craving”, en el que predomina la expectación del adicto hacia los efectos motivacionales positivos que presenta la droga. Durante la administración repetida de la droga puede observarse el fenómeno de sensibilización a determinadas acciones farmacológicas que se manifiestan principalmente en el animal de experimentación por un incremento progresivo de los efectos hiperlocomotores de la droga. La sensibilización se observa sobre todo utilizando un protocolo de administración intermitente de la droga y ha sido interpretada como una manifestación del incremento progresivo del estado de expectativa a los efectos producidos por la droga que ocurre tras su administración repetida en humanos y que se denomina con el término “wanting” (Robinson y Berridge, 1993).

Diversos modelos comportamentales son utilizados para evaluar los efectos reforzantes de las drogas de abuso. Dicho efecto reforzante puede ser determinado de forma indirecta observando la capacidad de la droga para modular la recompensa inducida por otros estímulos (técnicas de autoestimulación eléctrica intracraneal), o investigando la capacidad de la droga para permitir que se realicen asociaciones entre las respuestas reforzantes de dicha droga y estímulos ambientales inicialmente neutros (preferencia de plaza condicionada). Sin embargo, los efectos reforzantes de una droga también pueden ser evaluados de manera directa mediante la utilización de paradigmas operantes de autoadministración (Schulteis y Koob, 1996). El uso de todos estos modelos experimentales en el animal ha permitido un avance importante en la comprensión de los mecanismos neurobiológicos implicados en los fenómenos de adicción a opiáceos.

PROCESOS IMPLICADOS EN EL INICIO Y MANTENIMIENTO DE LA ADICCIÓN

Una de las teorías más aceptadas en la actualidad para explicar el proceso de inicio y mantenimiento de la adicción a drogas de

abuso es la teoría de la espiral de desregulación del sistema de recompensa cerebral (Koob y Le Moal, 1997; Koob, Ahmed, Boutrel, Chen, Kenny, Markou, et al., 2004). Según esta teoría, el fenómeno adictivo se inicia con las primeras exposiciones a la droga e implica el comienzo de un proceso adaptativo que el organismo desarrolla para contrarrestar los efectos de la misma sobre todo a nivel del sistema nervioso central. El organismo siempre intenta mantener un equilibrio homeostático en todos sus sistemas, incluido el sistema de recompensa cerebral. La administración de una droga de abuso y la aparición de sus efectos reforzantes desequilibra dicha homeostasis, lo que origina el desarrollo de una respuesta adaptativa que se opone al efecto inicial de la droga. Debido a esta reacción adaptativa, los circuitos cerebrales implicados en el refuerzo no vuelven al nivel fisiológico que mantenían antes de la exposición a la droga (Koob, Stinus, Le Moal y Bloom, 1989; Koob y Le Moal, 1997). El proceso adaptativo de oposición al efecto hedónico de la droga se desarrolla lentamente, pero se intensifica de forma progresiva hasta enmascarar el efecto reforzante agudo de la droga (Solomon y Corbit, 1974). Estos cambios adaptativos van creciendo con el consumo repetido de la droga produciendo un estado que consolida el continuo consumo de la misma. Se produce así una exacerbación progresiva de esta situación patológica (Koob y LeMoal, 2001; Koob et al., 2004).

El análisis de esta teoría muestra que los fenómenos adictivos están relacionados tanto con los efectos positivos de las drogas como con la necesidad que se genera en el adicto para paliar las consecuencias negativas de la ausencia de la misma. Los efectos reforzantes de las drogas de abuso parecen ser responsables del inicio y establecimiento del fenómeno adictivo. Por otra parte, los efectos negativos relacionados con la abstinencia de la droga resultan cruciales para el mantenimiento del proceso adictivo y la tendencia a la recaída tras periodos prolongados de abstinencia (Koob y LeMoal, 1997).

Los estudios recientes han permitido un notable avance en el conocimiento del sustrato biológico responsable de los efectos reforzantes y aversivos de las drogas de abuso, proporcionando una información importante sobre la existencia de múltiples mecanismos neuroquímicos, moleculares y neuroanatómicos comunes a la adicción de distintos tipos de drogas incluidos los opiáceos.

SUSTRATO NEUROBIOLÓGICO DE LA DEPENDENCIA FÍSICA DE OPIOIDES

Una primera hipótesis para explicar el desarrollo de la dependencia opiácea sugirió la existencia de una disminución en el número y/o afinidad de los receptores opioides en respuesta a la presencia continua del fármaco. Este fenómeno fue observado tras la administración de agonistas opioides en cultivos celulares que poseen dichos receptores (Law, Hom y Loh, 1982; Law, Hom y Loh, 1984) pero raramente ha podido ser replicado en los estudios realizados *in vivo* (Chang, Eckel y Blanchard, 1982; Law et al., 1984; Puttfarcken y Cox, 1989; Zadina, Kastin y Kersh, 1992). Una segunda hipótesis para explicar la implicación del sistema opioide endógeno estaba basada en los efectos de la administración crónica de opiáceos sobre la biosíntesis de péptidos opioides. Según esta teoría durante el desarrollo de la tolerancia y la dependencia opiácea se generarían ciertos fragmentos peptídicos a partir de los propios precursores de los péptidos opioides endógenos que poseerían propiedades opuestas a los opioides. Estos fragmentos peptídicos disminuirían las respuestas farmacológicas de los opiáceos y participarían en la expresión de la dependencia (Bronstein, Przewlocki y Akil, 1990; Hammonds, Nicholas y Li, 1984; Nicolas, Hammonds y Li, 1984). No obstante, los cambios producidos a nivel del propio receptor opioide o de la síntesis y degradación de los péptidos opioides endógenos no parecen tener una relevancia importante en los procesos de dependencia. En efecto, los fenómenos adaptativos que se producen en

el sistema opioide endógeno durante el desarrollo de la dependencia opiácea tienen lugar de una manera predominante a nivel de los sistemas de segundo mensajero acoplados al receptor opioide, incluyendo entre otros las proteínas G y diversos enzimas transmembranaarios e intracelulares (Nestler, 1992). Como hemos citado anteriormente, la activación de los receptores opioides produce a través de su interacción con una proteína G la inhibición del enzima adenilato ciclasa, responsable de catalizar la síntesis de AMPc. El efecto inhibitorio crónico producido por la presencia continuada del opiáceo induce una hipertrofia compensatoria que afecta a la mayor parte de estos mensajeros intracelulares ligados a la cadena del AMPc (Collier, 1980; Nestler, 1992). Diversos estudios han mostrado que estos cambios en los sistemas de mensajeros son en parte responsables de la aparición de los fenómenos de tolerancia y dependencia opiácea.

Las primeras observaciones acerca de una activación del sistema AMPc durante la abstinencia opiácea fueron realizadas a partir de estudios sobre cultivos de células híbridas de neuroblastoma/glioma NG 108-15 (Sharma, Klee y Nirenberg, 1975). Un incremento en los niveles de AMPc (Collier y Francis, 1975), así como en la actividad proteína kinasa (Clark, Jovic y Ornellas, 1972) también fue inicialmente observada en el cerebro durante la abstinencia a opiáceos. Estudios posteriores han evaluado las estructuras cerebrales que se encuentran específicamente implicadas en estos cambios adaptativos. La dependencia opiácea produce una hipertrofia del sistema ligado al AMPc principalmente a nivel del locus coeruleus donde se observan modificaciones compensatorias en las proteínas G (Nestler, Erdos, Terwilliger, Duman y Tallman, 1989) y en las actividades adenilato ciclasa y proteína kinasa A (Nestler y Tallman, 1988). Algunas de estas modificaciones también pudieron ser observadas en otras estructuras, como el núcleo accumbens (Terwilliger, Beitner-Johnson, Sevarino, Crain y Nestler, 1991) y el estriado (Matthes, Maldonado, Simonin, Valverde, Slowe, Kitchen et al., 1996). En el locus coeruleus, también se encontraron

modificaciones compensatorias a nivel de diferentes proteínas que resultan fosforiladas por las proteínas kinasas, incluyendo proteínas citoplasmáticas, proteínas del citoesqueleto que controlan la talla y la forma de las neuronas, y factores de transcripción que regulan la expresión genómica de la célula (Nestler, 1992). Los cambios producidos a nivel de estos factores de transcripción resultan de gran importancia para la expresión de la dependencia opiácea (Maldonado, Blendy, Tzavara, Gass, Roques, Hanoune et al., 1996a).

Sin embargo, este conjunto de fenómenos adaptativos que se producen a nivel del propio sistema opioide endógeno no es suficiente para explicar completamente el desarrollo de la dependencia. Así, la participación de numerosos sistemas neuroquímicos diferentes del sistema opioide ha sido propuesta para explicar la regulación heteróloga de los procesos de dependencia a opiáceos. En este sentido, diversos cambios han sido descritos durante el desarrollo de esta dependencia sobre todo a nivel de los sistemas dopaminérgico, noradrenérgico, serotoninérgico, colinérgico, GABAérgico y peptidérgicos. No obstante, este conjunto de mecanismos homólogos y heterólogos no funciona de una manera independiente sino que se integra en unos sistemas neuronales comunes para dar lugar a una respuesta única de todo el organismo. Una estructura cerebral que puede servir como buen modelo para explicar la integración de estos mecanismos homólogos y heterólogos es el locus coeruleus. Este núcleo es el principal origen de las fibras noradrenérgicas en el cerebro y posee una alta densidad tanto de receptores opioides como de receptores adrenérgicos (Moore y Bloom, 1979). El locus coeruleus parece ser además la principal estructura implicada en la expresión de la dependencia física a los opiáceos (Aghajanian, 1978; Maldonado, Stinus, Gold y Koob, 1992; Maldonado y Koob, 1993), y presenta una gran hiperactividad neuronal durante la abstinencia que está directamente relacionada con las manifestaciones físicas de dicho síndrome (Rasmussen, Beitner-Johnson,

Krystal, Aghajanian y Nestler, 1990). Esta activación del locus coeruleus durante la abstinencia opiácea es debida a la combinación de diversos mecanismos. Por una parte, existen fenómenos intrínsecos en el propio locus coeruleus representados por los cambios adaptativos que se producen durante la administración crónica de opiáceos en el conjunto de mensajeros dependientes del AMPc (Nestler, 1992). Así, el incremento de las actividades adenilato ciclasa y proteína quinasa que se produce durante la dependencia opiácea contribuye directamente al aumento de la excitabilidad eléctrica de las neuronas del locus coeruleus en el momento de la abstinencia (Rasmussen et al., 1990). Sin embargo, existen también factores extrínsecos a esta estructura que participan en su activación. En efecto, el núcleo paragigantocelularis proyecta fibras glutamatérgicas de carácter excitatorio al locus coeruleus (Ennis y Aston-Jones, 1988). Durante la abstinencia se observa un incremento en la liberación de neurotransmisores excitatorios procedentes de dicho núcleo paragigantocelularis (Akaoka y Aston-Jones, 1991; Rasmussen y Aghajanian, 1989). Este aumento en la actividad de las aferencias excitatorias se acompaña de un incremento en la sensibilidad de las neuronas del locus coeruleus a dichos transmisores como consecuencia de los cambios intrínsecos ocurridos en esta estructura. La unión de ambos mecanismos es responsable de la hiperactividad noradrenérgica observada durante la abstinencia (Maldonado, Stinus, y Koob, 1996b; Maldonado, 1997a). Sin embargo estudios más recientes sugieren que la transmisión noradrenérgica procedente del locus coeruleus no parece jugar un papel esencial para la expresión de la abstinencia opiácea, ya que la lesión de las neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus no previene la expresión de la dependencia de morfina en ratas. Además, la clonidina fue capaz de atenuar la severidad de la abstinencia morfinica en estos animales, lo que sugiere que este antagonista bloquea la abstinencia actuando sobre los adrenoreceptores postsinápticos alfa2 (Caille, Espejo, Reneric, Cadot, Koob y Stinus, 1999).

SUSTRATO NEUROBIOLÓGICO DE LOS EFECTOS REFORZANTES DE LOS OPIOIDES

Estudios bioquímicos, farmacológicos, electrofisiológicos y moleculares han identificado diversos sistemas neuroquímicos que representan un sustrato común para los efectos reforzantes inducido por diferentes drogas de abuso incluidos los opioides (Girault y Greengard, 2004; Koob, 1992; Koob y LeMoal, 2001; Wise, 2004). Este sustrato integra al sistema mesolímbico y en particular a dos sistemas neuroquímicos, el dopaminérgico y el opioide. El primer componente neuroanatómico del sistema dopaminérgico mesolímbico es el área tegmental ventral que contiene los cuerpos celulares de neuronas dopaminérgicas, que proyectan sus terminales a diversas áreas del sistema límbico (núcleo accumbens, tubérculo olfatorio, amígdala, corteza límbica) (Koob y LeMoal, 2001). Las vías dopaminérgicas centrales ejercen un control importante sobre diversas funciones cerebrales tales como la motivación, la actividad motora, la memoria y la cognición (Wise, 2004). El segundo sistema neuroquímico, el sistema opioide endógeno, participa no sólo en los efectos reforzantes inducidos por los opiáceos sino también en el refuerzo inducido por otras drogas tales como el etanol (Gianoulakis, 2004; Roberts, Heyser, McDonald, Kieffer, Matthes, Koob et al., 2000), los cannabinoides (Ghozland, Matthes, Simonin, Filliol, Kieffer y Maldonado, 2002; Valverde, Maldonado, Valjent, Zimmer y Zimmer, 2000) y la nicotina (Berrendero, Kieffer y Maldonado, 2002; Berrendero, Mendizábal, Robledo, Galeote, Bilkei-Gorzo, Zimmer et al., 2005). A pesar de que tanto el sistema dopaminérgico como el opioide ejercen un control esencial sobre los mecanismos de refuerzo, otros sistemas de neurotransmisión interaccionan también con estos circuitos de recompensa, como es el caso del GABA, glutamato, serotonina y cannabinoides, entre otros (Koob, 1992; Nestler, 2002; Wise, 2004).

Las proyecciones dopaminérgicas que parten del cerebro medio modulan la actividad del cerebro anterior y las áreas corticales. Entre este conjunto de estructuras existentes que presentan una especial relevancia en los fenómenos adictivos, el complejo mesolímbico-accumbens-amígdala, incluyendo la llamada amígdala extendida y la corteza del núcleo accumbens (Koob, 1992; Koob, 1999), y el circuito cortico-estriato-pálido-talámico, en particular el cortex frontal y cingular (Koob y Le Moal, 2001; Wise, 2004). El primer conjunto de estructuras está implicado en las manifestaciones de los efectos reforzantes. Así, tanto los refuerzos naturales como los opioides y otras drogas de abuso incrementan la tasa de descarga de las neuronas dopaminérgicas mesolímbicas (Camí y Farré, 2003; Nestler, 2002). Estudios realizados utilizando la técnica de microdiálisis revelan que tal activación neuronal está acompañada por un incremento de la liberación de dopamina en las áreas de proyección de las neuronas dopaminérgicas, principalmente en la corteza del núcleo accumbens. Esta liberación de dopamina ha sido relacionada con la euforia y los efectos reforzantes inducidos por los estímulos naturales y por las drogas. Al contrario de lo que ocurre con los estímulos naturales, el efecto de una droga, como los opioides, sobre la liberación de dopamina no está influenciada por la habituación y cada vez que la droga es consumida es capaz de estimular la liberación de dopamina en los circuitos de recompensa (Di Chiara, 1999).

La conducta de búsqueda de la droga está bajo el control de la amígdala extendida e implica proyecciones corticales hacia el core del núcleo accumbens que está relacionado con el circuito estriato-palidal (Everitt, Parkinson, Olmstead, Arroyo, Robledo y Robbins, 1999; Koob y LeMoal, 2001). El circuito cortico-estriato-pálido-talámico está estrechamente relacionado con aspectos cognitivos y con las conductas compulsivas y repetitivas. Técnicas de neuroimagen han permitido relacionar este circuito con la fase de búsqueda compulsiva de la droga o "craving" (Volkow y Fowler, 2000; Volkow, Fowler, Wang

y Swanson, 2004). Los opioides y el resto de las drogas de abuso interactúan con estos circuitos cerebrales usando para ello diferentes mecanismos. La acción facilitadora ejercida por los opioides sobre la actividad del circuito dopaminérgico mesolímbico se produce mediante la disminución de la actividad de las neuronas GABAérgicas, las cuales ejercen una inhibición sobre las neuronas dopaminérgicas en el área tegmental ventral.

Diversos estudios han descrito que los opioides son capaces de producir efectos reforzantes por dos mecanismos distintos, uno dependiente de la liberación de dopamina como se ha descrito en el párrafo anterior, y otro independiente de la dopamina (Pettit, Ettenberg, Bloom y Koob, 1984; Shippenberg, Herz, Spanagel, Bals-Kubik y Stein, 1992; Spyraiki, Fibiger y Phillips, 1983). Así, los roedores son capaces de autoadministrarse opiáceos incluso tras la lesión de las vías dopaminérgicas. En este sentido, ratas entrenadas a autoadministrarse heroína y que habían sufrido lesiones con 6-hidroxi-dopamina en el núcleo accumbens no mostraron cambios en la pauta de auto-administración ni modificaciones en la preferencia espacial inducida por morfina (Gerrits, Lesscher y van Ree, 2002). Sin embargo, la preferencia espacial inducida por morfina resultó suprimida en ratones knockout deficientes en los receptores dopaminérgicos D2 (Maldonado, Saiardi, Valverde, Samad, Roques y Borrelli, 1997b).

En cuanto al subtipo de receptor opioide implicado, cabe destacar que los efectos reforzantes de los opioides están mediados por la estimulación de los receptores opioides μ . En este sentido, los efectos reforzantes de la morfina evaluados en el modelo del condicionamiento espacial fueron suprimidos en los ratones knockout deficientes en el receptor opioide μ (Matthes et al., 1996). Sin embargo, la estimulación de los receptores kappa opioide disminuye la liberación de dopamina en el núcleo accumbens y provoca la aparición de efectos aversivos (De Vries y Shippenberg, 2002).

SUSTRATO NEUROBIOLÓGICO DE LAS MANIFESTACIONES AVERSIVAS DEL SÍNDROME DE ABSTINENCIA DE OPIOIDES

El síndrome de abstinencia de opioides se manifiesta con síntomas físicos a los que se asocian síntomas subjetivos negativos, como son la disforia, depresión, irritabilidad, ansiedad y una desregulación de los sistemas de recompensa cerebrales. Dichos cambios motivacionales asociados al síndrome de abstinencia aparecen también tras el consumo de otras drogas de abuso y son de gran importancia para el mantenimiento del fenómeno adictivo. El sustrato biológico de estos cambios motivacionales es común para los opiodes y para otras drogas de abuso, y participan los mismos sistemas neuroquímicos implicados en la regulación de los fenómenos de refuerzo (Koob y LeMoal., 2001). Así, durante la abstinencia de opioides y de otras drogas de abuso se observa una marcada disminución de la actividad eléctrica de las neuronas dopaminérgicas en el sistema mesolímbico (Diana, Pistis, Carboni, Gessa y Rossetti, 1993; Diana, Melis y Gessa, 1998). En la misma línea, estudios de microdiálisis realizados en el animal de experimentación muestran un importante descenso en los niveles de dopamina en el núcleo accumbens durante el síndrome de abstinencia de opiodes (Acquas, Carboni y Di Chiara, 1991; Acquas y Di Chiara, 1992; Rossetti, Hmaidan y Gessa, 1992). Esta disminución de la actividad dopaminérgica parece estar en relación con las consecuencias aversivas/disfóricas de la abstinencia.

Los circuitos cerebrales que controlan las respuestas al estrés también participan en las manifestaciones motivacionales de la abstinencia de opioides. Así, el síndrome de abstinencia opioide se relaciona con una elevación importante en los niveles extracelulares del factor liberador de corticotropina (CRF) en áreas del sistema mesolímbico y especialmente en la amígdala (Cummings, Elde, Ells y Lindall, 1983; Heinrichs, Menzaghi, Schulteis, Koob GF y Stinus, 1995; Koob, 1996) Esta alteración de la función del CRF límbico

parece mediar los síntomas relacionados con el estrés que acompañan al síndrome de abstinencia. Además, durante la abstinencia opioide, el CRF está también incrementado en el eje hipotálamo-hipofisario, dando lugar a una alteración del eje que persiste incluso tras el síndrome de abstinencia agudo (Kreek, Ragunath, Plevy, Hamer, Schneider y Hartman, 1984). Cambios similares de los niveles extracelulares de CRF han sido descritos durante la abstinencia a otras drogas de abuso como en el caso de los cannabinoides (Rodríguez de Fonseca, Carrera, Navarro, Koob y Weiss et al., 1997), el etanol (Koob, 1999) y los psicoestimulantes (Richter y Weiss, 1999).

MODIFICACIONES ADAPTATIVAS PERSISTENTES PRODUCIDAS POR LOS OPIOIDES

Los opioides al igual que otras drogas de abuso producen cambios adaptativos a largo plazo en el cerebro que no solo contribuyen a la consolidación del proceso adictivo sino que parecen participar en la mayor vulnerabilidad para la recaída después de un periodo prolongado de abstinencia. Estos cambios han comenzado a ser identificados en los últimos años y se conocen toda una serie de modificaciones neurobiológicas persistentes que pueden ser inducidas por la administración de opioides. Una primera hipótesis para explicar estos cambios a largo plazo está basada en los cambios moleculares que se observan de una manera similar tanto en los procesos de aprendizaje como durante el desarrollo de los fenómenos adictivos (Ungless, Whistler, Malenka y Bonci, 2001). En realidad, ambos tipos de procesos están modulados por los mismos mecanismos neuroquímicos y comparten sistemas de señalización intracelular. En este sentido, la activación del factor de transcripción CREB ha sido relacionado con los procesos de memoria y aprendizaje (Bourtchuladze, Frenguelli, Blendy, Cioffi, Schutz y Silva, 1994) y con la dependencia de opioides (Maldonado et al., 1996a; Nestler, 2004; Valverde, Mantamadiotis, Torrecilla,

Ugedo, Pineda, Bleckmann et al., 2004). A pesar de estos mecanismos neuroquímicos comunes, diferentes regiones cerebrales están implicadas en ambos tipos de procesos. En este sentido el hipocampo es una estructura crucial para el desarrollo del aprendizaje mientras que el sistema mesolímbico representa el principal sustrato anatómico para el desarrollo de los fenómenos de refuerzo asociado al consumo de drogas. Sin embargo, existe una convergencia sustancial entre los circuitos neuronales implicados en uno y otro procesos. En este sentido, la actividad del sistema mesolímbico permite reforzar las memorias codificadas en el hipocampo, en particular aquellas que tienen un contenido emocional (Nestler, 2001; 2004).

Por otra parte, la administración repetida de opioides y de otras drogas de abuso produce cambios en la expresión génica de las neuronas, lo que representa un posible mecanismo para explicar las alteraciones comportamentales persistentes durante largo tiempo incluso tras el cese del consumo de la droga (Hyman y Nestler, 1996). Los factores de transcripción que se unen a elementos reguladores en las zonas promotoras de determinados genes juegan un papel fundamental en los cambios adaptativos a largo plazo. Así, la administración aguda o crónica de opioides y otras drogas de abuso modifica algunas de las proteínas que pertenecen al grupo del factor de transcripción "activador-proteína 1" (AP-1), que controla la expresión de diversos genes, entre ellos los pertenecientes a la familia de Fos (Karin, Liu y Zandi, 1997). La administración aguda de estas drogas produce una inducción rápida y transitoria de c-Fos y de otros miembros de la familia Fos en determinadas estructuras cerebrales como el núcleo accumbens y el estriado. Sin embargo, la exposición repetida a estas drogas también induce la expresión de isoformas tales como Δ fosB. Esta isoforma Δ fos B se acumula en el núcleo accumbens y el estriado sólo tras la administración crónica de la droga pero no tras la administración aguda (Hope, Nye, Kelz, Self, Iadarola, Nakabeppu et al., 1994;

Moratalla, Elibol, Vallejo y Graybiel, 1996; Nye, Hope, Kelz, Iadarola y Nestler, 1995). Al contrario que otras proteínas de la familia Fos, la isoforma Δ fos B es muy estable y una vez inducida, su expresión permanece detectable en el cerebro durante meses, incluso en ausencia de una nueva administración de la droga (Kelz y Nestler, 2000). La inducción a corto plazo de Δ fosB parece disminuir los efectos reforzantes de las drogas, mientras que la estimulación a largo plazo los incrementaría. En este sentido, la acumulación de Δ fosB durante la exposición crónica a drogas de abuso podría ser responsable de una modificación progresiva y persistente de los efectos de estas drogas, y que podría explicar la mayor vulnerabilidad de los sujetos adictos para reinstaurar el consumo incluso tras largos periodos de abstinencia (McClung y Nestler, 2003). Por otra parte, se ha demostrado que el incremento en la expresión de Δ fos B inducido en el núcleo accumbens por la administración crónica de drogas se produce de una manera más importante en ratas periaolescentes que en ratas adultas, destacando con ello la importancia de los cambios plásticos que las drogas de abuso son capaces de producir en el cerebro inmaduro (Ehrlich, Sommer, Canas y Unterwald, 2002). Algunos estímulos aplicados de forma crónica también provocan la inducción de Δ fosB (Kelz y Nestler, 1996). En este sentido, la exposición crónica a un estrés de tipo crónico induce una expresión importante de Δ fosB en estructuras tales como el cortex frontal, el núcleo accumbens y la amígdala basolateral (Perrotti, Hadeishi, Ulery, Barrot, Monteggia, Duman et al., 2004), todas ellas estructuras relacionada con los fenómenos adictivos. Un estudio reciente ha permitido identificar mediante técnicas de análisis de "microarray" los diferentes genes que se ven regulados tras la sobreexpresión de Δ fosB inducida en el núcleo accumbens por la administración repetida de drogas (McClung y Nestler, 2003). Dichos genes podrían representar en un futuro dianas potenciales para el diseño de nuevos fármacos para el tratamiento de los procesos adictivos. Por todo ello, el estudio del factor Δ fosB se convierte en un atractivo

candidato que parece representar un marcador molecular que refleja los cambios adaptativos a largo plazo inducidos en el cerebro tras la administración repetida de una droga de abuso, como los opioides, y que podría participar en los procesos de recaída en el consumo tras largos periodos de abstinencia.

CONCLUSIONES

Los estudios recientes han permitido un notable avance en el conocimiento del sustrato biológico responsable de los efectos reforzantes y aversivos de las drogas de abuso, proporcionando una información importante sobre la existencia de múltiples mecanismos neuroquímicos, moleculares y neuroanatómicos comunes a la adicción a distintos tipos de drogas incluidos los opiáceos. La dependencia física de opioides se origina como consecuencia de una serie de cambios adaptativos que se producen tanto a nivel del propio sistema opioide endógeno como sobre otros sistemas neuroquímicos diferentes, entre los que podríamos destacar al sistema noradrenérgico, que regulan de una manera heteróloga estos procesos de dependencia física. Por otra parte, el sistema mesolímbico ha sido identificado como el sustrato neurobiológico común para los efectos reforzantes inducido por todas las drogas de abuso incluidos los opioides. Dos sistemas de neurotransmisión, el dopaminérgico y el opioide, juegan un papel predominante en estos circuitos para mediar los efectos reforzantes de los opioides. El sistema dopaminérgico mesolímbico junto con los circuitos cerebrales que controlan las respuestas al estrés también participa en las manifestaciones motivacionales negativas de la abstinencia de opioides. Finalmente, los opioides al igual que otras drogas de abuso producen cambios adaptativos a largo plazo en el cerebro que no solo contribuyen a la consolidación del proceso adictivo sino que parecen participar en la mayor vulnerabilidad para la recaída después de un periodo prolongado de abstinencia. Estos cambios incluyen modificaciones en la expresión génica de las

neuronas, entre las que se pueden destacar las modificaciones descritas a nivel del gen *ΔfosB* que podrían explicar las alteraciones comportamentales persistentes producidas por el consumo de opioides.

REFERENCIAS

- Acquas, E., Carboni, E. y Di Chiara, G. (1991). Profound depression of mesolimbic dopamine release after morphine withdrawal in dependent rats. *Eur J Pharmacol*, 193, 133-134.
- Acquas, E. y Di Chiara, G. (1992). Depression of mesolimbic dopamine transmission and sensitization to morphine during opiate abstinence. *J Neurochem*, 58, 1620-1625.
- Aghajanian, G.K. (1978). Tolerance of locus coeruleus neurons to morphine and suppression of withdrawal response by clonidine. *Nature*, 276, 186-188.
- Akaoka, A. y Aston-Jones, G. (1991). Opiate withdrawal-induced hyperactivity of locus coeruleus neurons is substantially mediated by augmented excitatory amino acid input. *J Neurosci*, 11, 3830-3839.
- Berrendero, F., Kieffer, B.L. y Maldonado, R. (2002). Attenuation of nicotine-induced antinociception, rewarding effects, and dependence in mu-opioid receptor knock-out mice. *J Neurosci*, 22, 10935-10940.
- Berrendero, F., Mendizábal, V., Robledo, P., Galeote, L., Bilkei-Gorzo, A., Zimmer, A., et al. (en prensa). Maldonado R. Nicotine-induced antinociception, rewarding effects, and physical dependence are decreased in mice lacking the preproenkephalin gene. *J Neurosci*.
- Bloom, F.E. y Kupfer, D.J. (1995). *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. New York: Raven Press.
- Bourtchuladze, R., Frenquelli, B., Blendy, J., Cioffi, D., Schutz, G. y Silva, A.J. (1994). Deficient long-term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP-responsive element-binding protein. *Cell*, 79, 59-68.
- Bronstein, D.M., Przewlocki, R. y Akil, H. (1990). Effects of morphine treatment on pro-opiomelanocortin systems in rat brain. *Brain Res*, 519, 102-111.
- Caille, S., Espejo, E.F., Reneric, J.P., Cador, M., Koob, G.F. y Stinus, L. (1999). Total neurochemical lesion of noradrenergic neurons of the locus ceruleus does not alter either naloxone-precipitated or spontaneous opiate withdrawal nor does it influence ability of clonidine to reverse opiate withdrawal. *J Pharmacol Exp Ther*, 290, 881-892.
- Camí, J., Farré, M. (2003). Drug addiction. *N Engl J Med*, 349, 975-986.
- Chang, K.J., Eckel, R.W. y Blanchard, S.G. (1982). Opioid peptides induced reduction of enkephalin receptors in cultured neuroblastoma cells. *Nature*, 296, 446-448.
- Chen, Y., Mestek, A., Liu, J., Hurley, J.A. y Yu, L. (1993). Molecular cloning and functional expression of a mu-opioid receptor from rat brain. *Mol Pharmacol*, 44, 8-12.
- Clark, A.G., Jovic, R. y Ornellas, M.R. (1972). Brain microsomal protein kinase in the chronically morphinized rat. *Biochem Pharmacol*, 21, 1989-1990.
- Collier, H.O.J. y Francis, D.L. (1975). Morphine abstinence is associated with increased brain cyclic AMP. *Nature*, 255, 159-162.
- Collier, H.O.J. (1980). Cellular site of opiate dependence. *Nature*, 283, 625-630.
- Comb, M., Seeburg, P.H., Adelman, J., Eiden, L. y Herbert, E. (1982). Primary structure of the human Met- and Leu-enkephalin precursor and its mRNA. *Nature*, 295, 663-666.
- Cummings, S., Elde, R., Ells, J. y Lindall, A. (1983). Corticotropin releasing factor immunoreactivity is widely distributed within the central nervous system of the rat: An immunohistochemical study. *J Neurosci*, 3, 1355-1368.
- De Vries, T.J. y Shippenberg, T.S. (2002). Neural systems underlying opiate addiction. *J Neurosci*, 22, 3321-3325.
- Deroche-Gamonet, V., Belin, D. y Piazza, P.V. (2004). Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science*, 305, 1014-1017.
- Di Chiara, G. (1999). Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. *Eur J Pharmacol*, 375, 13-30.
- Diana, M., Pistis, M., Carboni, S., Gessa, G.L. y Rossetti, Z.L. (1993). Profound decrement of mesolimbic dopaminergic neuronal activity during ethanol withdrawal syndrome in rats: electrophysiological and biochemical evidence. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90, 7966-7969.

- Diana, M., Melis, M. y Gessa G.L. (1998). Increase in meso-prefrontal dopaminergic activity after stimulation of CB1 receptors by cannabinoids. *Eur J Neurosci*, 10, 2825-2830.
- Ehrlich, M.E., Sommer, J., Canas, E. y Unterwald, E.M. (2002). Periadolescent mice show enhanced DeltaFosB upregulation in response to cocaine and amphetamine. *J Neurosci*, 22, 9155-9159.
- Ennis, M. y Aston-Jones, G. (1988). Activation of locus coeruleus from nucleus paragigantocellularis: a new excitatory amino acid pathway in brain. *J Neurosci*, 8, 3644-3657.
- Evans, C.J., Keith, D.E., Morrison, H., Magendzo, K. y Edwards, R.H. (1992). Cloning of a delta receptor by functional expression. *Science*, 258, 1952-1955.
- Everitt, B.J., Parkinson, J.A., Olmstead, M.C., Arroyo, M., Robledo, P. y Robbins, T.W. (1999). Associative processes in addiction and reward: the role of amygdala-ventral striatal subsystems. *Ann NY Acad Sci*, 7, 412-438.
- Gerrits, M.A., Lesscher, H.B. y van Ree, J.M. (2003). Drug dependence and the endogenous opioid system. *Eur Neuropsychopharmacol*, 13, 424-434.
- Ghozland, S., Matthes, H.W., Simonin, F., Filliol, D., Kieffer, B.L. y Maldonado, R. (2002). Motivational effects of cannabinoids are mediated by mu-opioid and kappa-opioid receptors. *J Neurosci*, 22, 1146-1154.
- Gianoulakis, C. (2004). Endogenous opioids and addiction to alcohol and other drugs of abuse. *Curr Top Med Chem*, 4, 39-50.
- Gilbert, P.E. y Martin, W.R. (1976). The effects of morphine- and nalorphine-like drugs in the nondependent, morphine-dependent and cyclazocine-dependent chronic spinal dog. *J Pharmacol Exp Ther*, 198, 66-82.
- Girault, J.A. y Greengard, P. (2004). The neurobiology of dopamine signaling. *Arch Neurol*, 61, 641-644.
- Goodman-Gilman, A., Rall, T.W., Nies, A.S. y Taylor, P. (Eds.) (1996). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Atlanta: Mc Graw Hill Interamericana Press.
- Hammonds, R.G., Nicholas, P. y Li, C.H. (1984). Beta-endorphin (1-27) is an antagonist of beta-endorphin analgesia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 81, 1389-1393.
- Heinrichs, S.C., Menzaghi, F., Schulteis, G., Koob, G.F. y Stinus, L. (1995). Suppression of corticotropin-releasing factor in the amygdala attenuates aversive consequences of morphine withdrawal. *Behav Pharmacol*, 6, 74-80.
- Hill, R.G. (1997). Pharmacological considerations in the use of opioids in the management of pain associates with nonterminal disease states. *Pain Rev*, 1, 47-61.
- Hope, B.T., Nye, H.E., Kelz, M.B., Self, D.W., Iadarola, M.J., Nakabeppu, Y., et al. (1994). Induction of a long-lasting AP-1 complex composed of altered Fos-like proteins in brain by chronic cocaine and other chronic treatments. *Neuron*, 13, 1235-1244.
- Hughes, J., Smith, T.W. y Kosterlitz, H.W. (1975). Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature*, 258, 577-579.
- Hyman, S.E. y Nestler, E.J. (1996). Initiation and adaptation: a paradigm for understanding psychotropic drug action. *Am J Psychiat*, 153, 151-162.
- Jaffe, J.H. (1990). Trivializing dependence. *Br J Addict*, 85, 1425-1427.
- Kakidani, H., Furutani, Y., Takahashi, H., Noda, M., Morimoto, Y., Hirose, T. et al. (1982). Cloning and sequence analysis of cDNA for porcine beta-neo-endorphin/dynorphin precursor. *Nature*, 298, 245-249.
- Karin, M., Liu, Z. y Zandi, E. (1997). AP-1 function and regulation. *Curr Opin Cell Biol*, 9, 240-246.
- Kelz, M.B. y Nestler, E.J. (2000). DeltaFosB: a molecular switch underlying long-term neural plasticity. *Curr Opin Neurol*, 13, 715-720.
- Khachaturian, H., Lewis, M.E., Schäfer, M.K.H. y Watson, S.J. (1985). Anatomy of the CNS opioid systems. *Trends Neurosci*, 8, 111-119.
- Kieffer, B.L., Befort, K., Gaveriaux-Ruff, C. y Hirth, C.G. (1992). The delta-opioid receptor. Isolation of a cDNA by expression, cloning and pharmacological characterization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89, 12048-12052.
- Koob, G.F., Stinus, L., Le Moal, M. y Bloom, F.E. (1989). Opponent process theory of motivation: neurobiological evidence from studies of opiate dependence. *Neurosci Biobehav Rev*, 13, 135-40.
- Koob, G.F. (1992). Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends Pharmacol Sci*, 13, 177-184.

- Koob, G.F. (1996). Drug addiction: the yin and yang of hedonic homeostasis. *Neuron*, 16, 893-896.
- Koob, G.F. y Le Moal, M. (1997). Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science*, 278, 52-58.
- Koob, G.F. (1999). Stress, corticotropin-releasing factor, and drug addiction. *Ann N Y Acad Sci*, 897, 27-45.
- Koob, G.F. y LeMoal, M. (2001). Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology*, 24, 97-129.
- Koob, G.F., Ahmed, S.H., Boutrel, B., Chen, S.A., Kenny, P.J., Markou, A., et al. (2004). Neurobiological mechanisms in the transition from drug use to drug dependence. *Neurosci Biobehav Rev*, 27:739-49.
- Kreek, M.J., Ragunath, J., Plevy, S., Hamer, D., Schneider, B. y Hartman, N. (1984). ACTH, cortisol and beta-endorphin response to metyrapone testing during chronic methadone maintenance treatment in humans. *Neuropeptides*, 5, 277-278.
- Law, P.Y., Hom, D.S. y Loh, H.H. (1982). Loss of opiate receptor activity in neuroblastoma x glioma NG 108-15 hybrid cells after chronic opiate treatment : a multiple-step process. *Mol Pharmacol*, 22, 1-4.
- Law, P.Y., Hom, D.S. y Loh, H.H. (1984). Down-regulation of opiate receptor in neuroblastoma x glioma NG 10815 hybrid cells. *J Biol Chem*, 259, 4096-4104.
- Maldonado, R., Stinus, L., Gold, L. y Koob, G.F. (1992). Role of different brain structures in the expression of the physical morphine withdrawal syndrome. *J Pharmacol Exp Ther*, 261, 669-677.
- Maldonado, R. y Koob, G.F. (1993). Modification in the development of morphine dependence in rats by electrolytic lesion of the locus coeruleus. *Brain Res*, 605, 128-138.
- Maldonado, R., Blendy, J.A., Tzavara, E., Gass, P., Roques, B.P., Hanoune, J., et al. (1996a). A mutation in the CREB gene strongly reduces the withdrawal syndrome in morphine dependent mice. *Science*, 273, 657-659.
- Maldonado, R., Stinus, L. y Koob, G.F. (1996b). Mechanisms of opiate withdrawal. En: *Neuroscience Intelligence Unit*. (pp. 1-204) Heidelberg, Germany: R.G. Landes Company, Springer Verlag.
- Maldonado, R. (1997a). Participation of noradrenergic pathways in the expression of opiate withdrawal : Biochemical and pharmacological evidences. *Neurosci Biobehav Rev*, 21, 91-104.
- Maldonado, R., Saiardi, A., Valverde, O., Samad, T.A., Roques, B.P. y Borrelli, E. (1997b). Absence of opiate rewarding effects in mice lacking dopamine D₂ receptors. *Nature*, 388, 586-589.
- Martin, W.R. y Eades, C.G. (1967). Pharmacological studies of spinal cord adrenergic and cholinergic mechanisms and their relation to physical dependence on morphine. *Psychopharmacologia*, 11, 195-223.
- Martin, W.R., Eades, C.G., Thomson, J.A., Huppler, R.E. y Guilbert, P.E. (1976). The effects of morphine- and nalorphine-like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *J Pharmacol Exp Ther*, 197, 517-532.
- Matthes, H.W.D., Maldonado, R., Simonin, F., Valverde, O., Slowe, S., Kitchen, I., et al. (1996). Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the μ -opioid-receptor gene. *Nature*, 383, 819-823.
- McClung, C.A. y Nestler, E.J. (2003). Regulation of gene expression and cocaine reward by CREB and deltaFosB. *Nat Neurosci*, 6, 1208-1215.
- Meng, F., Xie, G.X., Thompson, R.C., Mansour, A., Watson, S.J. y Akil, H. (1993). Cloning and pharmacological characterization of a rat kappa opioid receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90, 9954-9958.
- Moore, R.Y. y Bloom, F.E. (1979). Central catecholamine neurons system: Anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine system. *Ann Rev Neurosci*, 2, 1113-1168.
- Moratalla, R., Elibol, B., Vallejo, M. y Graybiel, A.M. (1996). Network-level changes in expression of inducible Fos-Jun proteins in the striatum during chronic cocaine treatment and withdrawal. *Neuron*, 17, 147-156.
- Nakanishi, S., Inoue, A., Kita, T., Nakamura, M., Chang, A.C.Y., Cohen, S.N., et al. (1979). Nucleotide sequence of cloned cDNA for bovine corticotropin-beta-lipotropin precursor. *Nature*, 278, 423-427.
- Nestler, E.J. y Tallman, J.F. (1988). Chronic morphine treatment increases cyclic AMP-dependent

- protein kinase in the rat locus coeruleus. *Mol Pharmacol*, 33, 127-132.
- Nestler, E.J., Erdos, J.J., Terwilliger, R., Duman, R.S. y Tallman, J.F. (1989). Regulation of G-proteins by chronic morphine in the rat locus coeruleus. *Brain Res*, 476, 230-239.
- Nestler, E.J. (1992). Molecular mechanisms of drug addiction. *J Neurosci*, 12, 2439-2450.
- Nestler, E.J. (2001). Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci*, 2, 119-128.
- Nestler, E.J. (2002). Common molecular and cellular substrates of addiction and memory. *Neurobiol Learn Mem*, 78, 637-647.
- Nestler, E.J. (2004). Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology*, 1, 24-32.
- Nicolas, P., Hammonds, R.G. y Li, C.H. (1984). Beta-endorphin analgesia is inhibited by synthetic analogs of beta-endorphin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 81, 3074-3077.
- Noda, M., Furutani, Y., Takahashi, H., Toyosato, M., Hirose, T., Inayama, S., et al. (1982). Cloning and sequence analysis of cDNA for bovine adrenal preproenkephalin. *Nature*, 295, 202-206.
- Nye H.E., Hope, B.T., Kelz, M.B., Iadarola, M. y Nestler, E.J. (1995). Pharmacological studies of the regulation of chronic Fos-related antigen induction by cocaine in the striatum and nucleus accumbens. *J Pharmacol Exp Ther*, 275, 1671-1680.
- Patey, G. y Rossier, J. (1986). Découverte, anatomie et biosynthèse des différentes familles de peptides opioïdes endogènes. *Ann Endocrinol*, 47, 71-87.
- Perrotti, L.I., Hadeishi, Y., Ulery, P.G., Barrot, M., Monteggia, L., Duman, R.S., et al. (2004). Induction of deltaFosB in reward-related brain structures after chronic stress. *Neuroscience*, 24, 10594-10602.
- Pert, C.B. y Snyder, S.H. (1973). Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science*, 179, 1011-1014.
- Petit, H.O., Ettenberg, A., Bloom, F.E. y Koob, G.F. (1984). Destruction of dopamine in the nucleus accumbens selectively attenuates cocaine but not heroin self-administration in rats. *Psychopharmacology*, 84, 167-173.
- Puttfarcken, P.S. y Cox, B.M. (1989). Morphine-induced desensitization and down-regulation at mu-receptor in 7315C pituitary tumor cells. *Life Sci*, 45, 1937-1942.
- Rasmussen, K. y Aghajanian, G.K. (1989). Withdrawal-induced activation of locus coeruleus neurons in opiate-dependent rats: attenuation by lesions of the nucleus paragigantocellularis. *Brain Res*, 505, 346-350.
- Rasmussen, K., Beitner-Johnson, D.B., Krystal, J.H., Aghajanian, G.K. y Nestler, E.J. (1990). Opiate withdrawal and the locus coeruleus: behavioral, electrophysiological, and biochemical correlates. *J Neurosci*, 10, 2308-2317.
- Richter, R.M. y Weiss, F. (1999). In vivo CRF release in rat amygdala is increased during cocaine withdrawal in self-administering rats. *Synapse*, 32, 254-261.
- Roberts, A.J., Heyser, C.J., McDonald, J.S., Kieffer, B.L., Matthes, H.W.D., Koob, G.F., et al. (2000). Mu opioid receptor knockout mice do not self-administer alcohol. *J Pharmacol Exp Ther*, 293, 1002-1008.
- Robinson, T.E. y Berridge, K.C. (1993). The neural basis of drug craving: An incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Rev*, 18, 247-291.
- Rodriguez de Fonseca, F., Carrera, M.R.A., Navarro, M., Koob, G.F. y Weiss, F. (1997). Activation of corticotropin-releasing factor in the limbic system during cannabinoid withdrawal. *Science*, 276, 2050-2054.
- Roques, B.P., Noble, F., Daugé, V., Fournié-Zaluski, M.C. y Beaumont, A. (1993). Neutral endopeptidase 24.11: Structure, inhibition, and experimental and clinical pharmacology. *Pharmacol Rev*, 45, 7-146.
- Rossetti, Z.L., Hmaidan, Y. y Gessa, G.L. (1992). Marked inhibition of mesolimbic dopamine release: a common feature of ethanol, morphine, cocaine and amphetamine abstinence in rats. *Eur J Pharmacol*, 221, 227-234.
- Rossier, J., Vargo, T.M., Minick, S., Ling, N., Bloom, F.E. y Guillemin, R. (1977). Regional dissociation of beta-endorphin and enkephalin contents in rat brain and pituitary. *Proc Natl Acad Sci USA*, 74, 5162-5165.
- Schulteis, G. y Koob, G.F. (1996). Reinforcement processes in opiate addiction: a homeostatic model. *Neurochem Res*, 21, 1437-1454.
- Sharma, S.K., Klee, W.A. y Nirenberg, M. (1975). Dual regulation of adenylate cyclase accounts for narcotic dependence and tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 72, 3092-3096.

- Shearman, G.T. y Herz, A. (1982). Non-opioid psychotomimetic-like discriminative stimulus properties of N-allylnormetazocine (SKF 10,047) in the rat. *Eur J Pharmacol*, 82, 167-172.
- Shippenberg, T.S., Herz, A., Spanagel, R., Bals-Kubik, R. y Stein, C. (1992). Conditioning of opioid reinforcement: Neuroanatomical and neurochemical substrates. *Ann NY Acad Sci*, 654, 347-356.
- Simon, E.J., Hiller, J.M. y Edelman, I. (1973). Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic [³H]etorphine to rat-brain homogenate. *Proc Natl Acad Sci USA*, 70, 1947-1949.
- Solomon, R.L. y Corbit, J.D. (1974). An opponent-process theory of motivation. I. Temporal dynamics of affect. *Psychol Rev*, 81, 119-145.
- Spyraki, C., Fibiger, H.C. y Phillips, A.G. (1983). Attenuation of heroin reward in rats by disruption of the mesolimbic dopamine system. *Psychopharmacology*, 79, 278-283.
- Terenius, L. (1973). Stereospecific interaction between narcotic analgesics and a synaptic plasma membrane fraction of rat cerebral cortex. *Acta Pharmacol Toxicol*, 32, 317-320.
- Tewilliger, R.Z., Beitner-Johnson, D., Sevarino, K.A., Crain, S.M. y Nestler, E.J. (1991). A general role for adaptations in G proteins and the cyclic AMP system in mediating the chronic actions of morphine and cocaine on neuronal function. *Brain Res*, 548, 100-110.
- Thompson, R.C., Mansour, A., Akil, H. y Watson, S.J. (1993). Cloning and pharmacological characterization of a rat mu opioid receptor. *Neuron*, 11, 903-913.
- Ungless, M.A., Whistler, J.L., Malenka, R.C. y Bonci, A. (2001). Single cocaine exposure in vivo induces long-term potentiation in dopamine neurons. *Nature*, 411, 583-587.
- Valverde, O., Maldonado, R., Valjent, E., Zimmer, A.M. y Zimmer, A. (2000). Cannabinoid withdrawal syndrome is reduced in preproenkephalin knock-out mice. *J Neurosci*, 20, 9284-9289.
- Valverde, O., Mantamadiotis, T., Torrecilla, M., Ugedo, L., Pineda, J., Bleckmann, S., et al. (2004). Modulation of anxiety-like behavior and morphine dependence in CREB-deficient mice. *Neuropsychopharmacology*, 29, 1122-1133.
- Vanderschuren, L.J. y Everitt, B.J. (2004). Drug seeking becomes compulsive after prolonged cocaine self-administration. *Science*, 305, 1017-1019.
- Volkow, N.D. y Fowler, J.S. (2000). Addiction, a disease of compulsion and drive: Involvement of the orbitofrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 10, 318-325.
- Volkow, N.D., Fowler, J.S., Wang, G.J. y Swanson, J.M. (2004). Dopamine in drug abuse and addiction: results from imaging studies and treatment implications. *Mol Psychiat*, 9, 557-569.
- Wise, R.A. (2004). Dopamine learning and motivation. *Nat Rev Neurosci*, 5, 483-494.
- Yasuda, K., Raynor, K., Kong, H., Breder, C.D., Reisene, T. y Bell, G.I. (1993). Cloning and functional comparison of kappa and delta opioid receptors from mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90, 6736-6740.
- Zadina, J.E., Kastin, A.J. y Kersh, D. (1992). TYR-MIF and hemorphin can act as opiate agonist as well as antagonist in the guinea pig ileum. *Life Sci*, 51, 869-885.
- Zadina, J.E., Hackler, L., Ge, L.J. y Kastin, A.J. (1997). A potent and selective endogenous agonist for the mu-opiate receptor. *Nature*, 386, 499-502.